Die

Untersuchung des Auswurfs

auf

Tuberkelbacillen.

Von

Dr. med. Eugen Czaplewski,

Vorstand des Laboratoriums der Dr. Brehmer'schen Heilanstalt für Lungenkranke zu Görbersdorf i. Schl.

Mit 1 Tafel in Farbendruck und mehreren in den Text gedruckten Holzschnitten.



Jena.
Verlag von Gustav Fischer.
1891.

G. Pätz'sche Buchdr. (Lippert & Co.), Naumburg a/S.

Seinen akademischen Lehrern

in schuldiger Dankbarkeit

gewidmet

von dem

Verfasser.

Vorwort.

Als ich von der verehrl. Verlagsbuchhandlung die Anfrage erhielt, ob ich es übernehmen wolle, für ihren Verlag eine „Anleitung zur Untersuchung des Sputums auf Tuberkelbacillen“ zu schreiben, war ich mir der Schwierigkeit der gestellten Aufgabe sehr wohl bewufst. Es existierte bereits eine ganze Anzahl, zum Teil recht guter, ähnlicher Schriften; zudem findet man in den Lehrbüchern der Pathologie etc. die beliebtesten Vorschriften zur Genüge wiederholt, so dafs es wahrlich nicht darauf ankommen konnte, die Litteratur um eine Aufzählung und mehr oder weniger genaue Beschreibung allbekannter Methoden zu vermehren. Da war es nun ein Moment, welches mir geeignet schien als Gesichtspunkt für die zu lösende Aufgabe. Trotzdem wir so viele Anleitungen zur Sputumuntersuchung besitzen, trotzdem wir die Methoden überall ziemlich detailliert beschrieben finden, pflegt die Untersuchung in praxi selbst den Anfängern oft ganz erhebliche Schwierigkeiten zu machen. Das liegt nun, wie ich glaube, zum gröfsten Teil darin begründet, dafs die Autoren wohl recht genaue Vorschriften geben, wie man die Einzelheiten machen soll, darüber aber das „Warum man das so und nicht anders machen soll“ vernachlässigen und vor allem versäumen auf Fehlerquellen, welche vielleicht den Erfolg der ganzen Untersuchung in Frage stellen können, gebührend aufmerksam zu machen. Schon Ziehl (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 17 p. 249) betonte die Wichtigkeit der Untersuchung und Kenntnis dieser Fehlerquellen: „Weil aber die klinisch-diagnostische Bedeutung der Tuberkelbacillen einzig und allein auf der Farbenreaktion beruht, so müssen auch die möglichen Fehlerquellen derselben genau so eingehend untersucht werden, wie alle übrigen diagnostischen Methoden auf ihre Fehlerquellen untersucht werden; denn nur wenn diese bekannt sind, hat man ein Urteil darüber, wie sicher ein auf

den gelungenen oder nicht gelungenen Nachweis der Tuberkelbacillen gebauter diagnostischer Schlufs ist.“ [1]) Ich beschlofs daher auf diese Fehlerquellen — den negativen Teil der Aufgabe — mein ganz besonderes Augenmerk zu richten. Die wertvollsten kleinen Winke findet man bekanntlich oft irgendwo so ganz beiläufig, z. B. in einer Anmerkung eingestreut; ich machte mich daher daran, die gesamte einschlägige Litteratur von 1882 an, soweit sie mir zu Gebote stand, daraufhin anzusehen. Man darf in der vorliegenden kleinen Schrift nun nicht viel Neues suchen, wird aber um so mehr Altes finden, was, teilweise in Vergessenheit geraten, gleichwohl manchem noch neu sein dürfte und mir wertvoll genug schien, der Vergessenheit entrissen zu werden. — Was die weitere Behandlung des Stoffes anbetrifft, so glaube ich, sollte man sich bei der Untersuchung des tuberkulösen Auswurfs nicht blofs darauf beschränken, ein paar Tuberkelbacillen nachzuweisen, obwohl manche schon in diesem eine höchste Leistung bewundern. Ich meine, man kann denn doch noch mehr Gewinn aus der Untersuchung eines tuberkulösen Auswurfs ziehen. So hielt ich denn einige Bemerkungen, z. B. auch über sein makroskopisches Verhalten etc. durchaus nicht für ganz überflüssig.

Gerade den Kleinigkeiten bei der Anfertigung und Untersuchung der Präparate habe ich dann ganz besondere Aufmerksamkeit gewidmet, weil der Ausfall einer Methode meist von diesen, leider oft unterschätzten „Kleinigkeiten“ abhängt. Dem Vorgang von Ehrlich folgend, habe ich die Färbung, Entfärbung und Nachfärbung getrennt behandelt. Da auch ich der Ansicht bin, dafs jeder mit der Methode, auf die er sich eingeübt hat, die besten Resultate erzielt, und dafs eine schlechtere Methode in der Hand des Meisters mehr leistet, als die beste Methode in der Hand des Stümpers, so habe ich auch keine Methode besonders empfohlen. Die Wahl der Methode ist Geschmackssache, doch wollte ich eine kritische Beurteilung der einzelnen Methoden zu erleichtern suchen. Einige Bemerkungen über die aus der Untersuchung zu folgernden Schlüsse hielt ich für nicht unzweckmäfsig. Auch glaubte ich die Methoden zum Nachweis der jetzt etwas vernachlässigten elastischen Fasern anhangsweise anfügen zu sollen. Zum Schlufs habe ich dann die überall zerstreuten Vorschriften der einzelnen Autoren in möglichst ausführlicher Wiedergabe zusammengestellt, desgleichen Vorschriften für Lösungen etc. Man wird da naturgemäfs manchen Wiederholungen begegnen. Ich habe aber absichtlich vieles so ausführlich und unverkürzt wieder-

---

[1]) Die jüngst erschienene Schrift von Eberth konnte für die Darstellung in dieser Arbeit keinen Einflufs mehr ausüben, da dieselbe beim Erscheinen der Eberth'schen Schrift bereits zum gröfsten Teil vollendet war, während sich ihre definitive Fertigstellung aus äufseren Gründen verzögerte.

gegeben, weil ich den Leser in den Stand setzen wollte, die Methoden richtig nachmachen zu können.

Was die Abbildungen der Tafel betrifft, so habe ich dieselben sämtlich nach Originalpräparaten, resp. Photogrammen gezeichnet. Sie machen keinen Anspruch auf absolute Genauigkeit, welche sich ja nur bei Photogrammen erzielen läfst. Es kommt wohl auch weniger darauf an, ob die Gröfsenverhältnisse ganz genau sind, da diese ja an sich vielfach variieren. Vielmehr glaube ich kommt die annähernde Wiedergabe der Form und Proportion dabei in Frage.

Auf genaue Angabe der Litteratur habe ich besonderen Wert gelegt.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Dr. Felix Wolff, dem Chefarzt, sowie der Verwaltung unserer Heilanstalt, welche durch Entlastung von anderweitigen Geschäften und sonst in jeder Beziehung bereitwilligst meine Arbeit gefördert haben, ferner der verehrl. Verlagsbuchhandlung für ihre vielfachen Mühen und wiederholte Beschaffung seltener zSchriften, meinen verbindlichsten Dank hiermit auch öffentlich aususprechen. Herrn Dr. Th. Weyl fühle ich mich für seine stets bereite freundliche Auskunft über chemische Fragen, speziell die Anilinfarbstoffe betreffend, zu grofsem Danke verpflichtet.

Görbersdorf im April 1891.

Der Verfasser.

Inhalts-Übersicht.

Einleitung.

Bedeutung und Zweck der Untersuchung des Sputums auf Tuberkelbacillen.

Nachdem durch die Experimente von Klenke (1843), Villemin (1865) u. a. der Nachweis der Überimpfbarkeit der menschlichen Tuberkulose auf Tiere erbracht war und Koch (1882) in dem Tuberkelbacillus den Erreger der Tuberkulose isoliert hatte, durch dessen Verimpfung er mit unfehlbarer Sicherheit bei Tieren verschiedenster Art wiederum Tuberkulose zu erzeugen vermochte, hat sich die Lehre, dafs die Tuberkulose als eine Infektionskrankheit aufzufassen sei, langsam aber sicher die Anerkennung der Welt erobert.

Dafs die Tuberkulose, wie andere Infektionskrankheiten auch, unter gewissen Umständen heilbar ist, war durch die Ergebnisse zahlreicher Sektionen schon lange bewiesen. Denn gar nicht so selten fanden sich bei der Obduktion selbst anscheinend ganz gesunder Individuen die bekannten Lungennarben und verkalkten Knoten. Brehmer gebührt das Verdienst, als Erster den Beweis der Heilbarkeit der Phthise durch konsequente zielbewufste Behandlung geführt zu haben. Durch die grofsartige Kochsche Entdeckung ist jetzt die Behandlung der Tuberkulose in ein neues vielverheifsendes Stadium getreten. Schon Brehmer lehrte nach seinen Erfahrungen, dafs die Phthise in allen ihren Stadien unter Umständen heilbar sei. Er betonte aber auch, dafs das Anfangstadium die beste Prognose für die angestrebte Heilung gebe. Soweit die bisherigen Erfahrungen mit dem Koch'schen Mittel schon jetzt ein Urteil gestatten, ergiebt auch dieses die besten Resultate bei frischen Fällen. Man mufs daher, um die Behandlung rechtzeitig einleiten zu können, die Diagnose auf Tuberkulose so früh wie möglich zu sichern suchen und hat, da diese durch die Sputumuntersuchung am leichtesten und sichersten gestellt werden kann, vor allem das **Sputum auf die Anwesenheit von Tuberkelbacillen zu untersuchen.**

Auch Koch selbst äufsert sich in seiner epochemachenden Veröffentlichung in diesem Sinne: „Das Anfangsstadium der Phthise soll das eigentliche Objekt der Behandlung sein, weil sie diesem gegenüber ihre Wirkung voll und ganz entfalten kann. Deswegen kann aber auch gar nicht eindringlich genug darauf hingewiesen werden, dafs in Zukunft viel mehr, als bisher der Fall war, seitens der prak-

tischen Ärzte alles aufgeboten werden mufs, um die Phthisis so früh-zeitig als möglich zu diagnosticieren. Bislang wurde der Nachweis der Tuberkelbacillen im Sputum mehr als eine nicht uninteressante Nebensache betrieben, durch welche zwar die Diagnose gesichert, dem Kranken aber kein weiterer Nutzen geschafft wird, die deswegen auch nur zu oft unterlassen wurde, wie ich noch wieder in letzter Zeit an zahlreichen Phthisikern erfahren habe, welche gewöhnlich durch die Hände mehrerer Ärzte gegangen waren, ohne dafs ihr Sputum auch nur einmal untersucht war. In Zukunft mufs das anders werden. Ein Arzt, welcher es unterläfst, mit allen ihm zu Gebote stehenden Mitteln, namentlich mit Hilfe der Untersuchung des verdächtigen Sputums auf Tuberkelbacillen, die Phthise so früh als möglich zu konstatieren, macht sich damit einer schweren Vernachlässigung seines Kranken schuldig, weil von dieser Diagnose und der auf Grund derselben schleunigst eingeleiteten spezifischen Behandlung das Leben des Kranken abhängen kann.“

Durch diese Worte Koch's hat der Nachweis der Tuberkelbacillen im Sputum eine erhöhte Bedeutung gewonnen. Leider aber haben die Methoden zum Nachweis des Tuberkelbacillus noch immer nicht die genügende Verbreitung im ärztlichen Publikum gefunden, die sie, der Wichtigkeit des Gegenstandes entsprechend, beanspruchen dürfen. Vielfach werden auch unzweckmäfsige Methoden angewandt. In Fällen mit reichlichem Bacillengehalt gelingt der Nachweis der Tuberkelbacillen unschwer, auch mit schlechten Methoden. Dann ist die Phthise auch schon meist mittelst der physikalischen Methoden diagnostizierbar. In Fällen jedoch mit spärlichem Gehalt von vielleicht schon degenerierenden Bacillen gelingt er selbst mit guten Methoden schwer, mit schlechten nicht. Gerade in diesen Fällen aber ist der sichere Nachweis der Phthise durch physikalische Methoden oft unmöglich. Daher sollen wir die guten und schonenden Methoden bevorzugen, welche möglichst alle vorhandenen Tuberkelbacillen auch sicher zur Anschauung bringen. „Denn,“ wie ich a. a. O. (Cbl. f. Bakt. 1890 Nr. 22 u. 23) ausführte, „die Frage des Nachweises auch vereinzelter Bacillen ist prinzipiell von einschneidender Bedeutung.“ „Die Methoden“ aber „müssen so einfach wie möglich sein und so schonend wie möglich, so dafs sie auch dem Ungeübten kaum mifslingen können, und so schnell wie möglich, dafs auch ein vielbeschäftigter Arzt einige Zeit dafür erübrigen und sich nicht mehr mit Mangel an Zeit oder Schwierigkeit der Ausführung entschuldigen kann. Sie müssen Gemeingut aller Ärzte werden, damit man der verheerenden Krankheit, welche ein grofses volkswirtschaftliches Interesse beansprucht, gleich beim Entstehen entgegentreten kann.“

„Dann erst,“ sagt Koch (D. Med. Wschr. 1890 Nr. 46a p. 1029), „wird das neue Heilverfahren zu einem wahren Segen für die leidende Menschheit geworden sein, wenn es dahin gekommen ist, dafs möglichst alle Fälle von Tuberkulose frühzeitig in Behandlung genommen werden, und es gar nicht mehr zur Ausbildung der vernachlässigten schweren Formen kommt, welche die unerschöpfliche Quelle für immer neue Infektionen bisher gebildet haben.“

Möge es der vorstehenden kleinen Schrift vergönnt sein, ein bescheidenes Scherflein zur Erreichung des gesteckten hohen Zieles beizutragen!

KAPITEL I.

Das Sputum der Phthisiker.

Unter dem Namen Sputum, Auswurf, verstehen wir die gesammten Sekrete des Respirationstrakts sammt allen ihren Beimengungen und Verunreinigungen, soweit dieselben durch den Mund entleert, „ausgeworfen" werden, gleichgültig, aus welchem Teile des Respirationstraktus dieselben stammen. Selten werden wir das Sekret von einem einzelnen Abschnitt des Respirationstrakts ganz rein erhalten können, da dasselbe auf seinem Wege bis zu dem Munde zumeist durch Beimengungen der Sekrete etc. von anderen Schleimhäuten verunreinigt wird. Für die Beurteilung einer Erkrankung der Lungen aus dem Sputum kann natürlich nur der wirklich aus den Lungen stammende Auswurf in Betracht kommen. Aus dem eben angeführten Grunde wird man aber auch bei aus den Lungen stammendem Auswurf sehr oft in der Lage sein, die morphologischen Bestandteile anderer, vorzüglich der mehr distal gelegenen Abschnitte des Respirationstrakts nachweisen zu können. — Diese morphologischen Bestandteile sind entweder normalerweise beigemischt, indem die Epithelien der in Frage kommenden Schleimhäute, vor allem die der Mund- und Nasenhöhle, einem fortwährenden physiologischen Abschuppungsprozesse unterworfen sind, oder diese sonst physiologische Abschuppung ist pathologisch mehr oder minder hochgradig gesteigert. Aufser den morphologischen epithelialen Elementen besteht der Auswurf, und zwar zu seinem gröfsten Teile, aus Wasser, Mucin und Salzen. Meistenteils ist dem Auswurf Speichel beigemischt; man wird also auch Speichelkörperchen nicht vermissen. Im pathologisch veränderten Auswurf treten aufserdem Eiterkörperchen, elastische Fasern etc. auf. Je weniger morphologische Elemente vorhanden sind, um so durchsichtiger, je mehr, um so undurchsichtiger erscheint der Auswurf. Bei gewissen Erkrankungen des Respirationstrakts ist der Auswurf durch ganz bestimmte, für diese Erkrankung typische Eigentümlichkeiten charakterisiert.

Das tuberkulöse Sputum ist dagegen kein einheitlicher Begriff. Es giebt keine ganz charakteristische Form des Sputums bei Tuberkulose der Lungen, wie z. B. bei der genuinen croupösen Pneumonie. Selbst das noch am meisten charakteristisch erscheinende Kavernensputum ist kein reines tuberkulöses Produkt, sondern beeinflufst durch die Wirkung einer Mischinfektion mit fremden Mikrobien und Beimischung von Sekreten der passierten Luftwege. Mannigfaltig, wie der anatomische Befund an den Lungen, ist auch das Sputum des Phthisikers. Mit der rein tuberkulösen Infektion können sich alle möglichen anderen akuten und chronischen Lungenkrankheiten komplizieren. Das Sputum des Phthisikers wird demgemäfs mehr oder weniger die Charaktere der dem betreffenden komplizierenden Prozesse entsprechenden Sputumform aufweisen.

Ein Befund ist es aber, der, wenn er erbracht werden kann, das Sputum der Phthisiker mit unfehlbarer Sicherheit als tuberkulös erkennen läfst, das ist der Nachweis von Tuberkelbacillen in demselben. Aber auch diese können bei Phthisikern im

vorhandenen Sputum zeitweise fehlen, obwohl ein sicher tuberkulöser Prozefs besteht. D. i. mit anderen Worten, dafs auch Phthisiker unter Umständen nichttuberkulöse Sputa entleeren können. — Manche Phthisiker haben überhaupt keinen Auswurf, und zwar meist im Anfangsstadium und bei Eintritt der Heilung. Im letzteren Falle hat sich gewöhnlich das Sputum allmählich verringert und ist schliefslich auf 0 herabgesunken. Oft zeigen die Patienten dann aber noch am Morgen einen geringen, von ihnen kaum beachteten Auswurf. In diesem finden sich dann wohl auch noch Tuberkelbacillen. Man lasse sich also durch die Angabe der Patienten, dafs sie keinen Auswurf hätten, nicht täuschen und weise sie an, das eventuell vorhandene, unbeachtet gebliebene Morgensputum, welches hustend entleert wird (B. Fränkel, Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 197), sorgfältig zur Untersuchung aufzuheben. Im entgegengesetzten Falle kann das Tagessputum auch eine Quantität von 800—1000 ccm und darüber wohl erreichen. Durch das Koch'sche Mittel scheint zunächst fast immer eine Zunahme der Quantität des Sputums zu erfolgen. Dieselbe kann von einigen 75—100 ccm, wie in einem Falle von uns bis auf 600 pro die ansteigen. Selbst Fälle, die früher fortdauernd ohne Auswurf waren, zeigten nach Injektion mit dem Kochschen Mittel eine ziemlich beträchtliche Expektoration.

Quantität.

Im Verlauf der weiteren Injektionsbehandlung pflegt dann der anfangs gesteigerte Auswurf wieder abzunehmen und auch selbst ganz zu verschwinden. Unregelmäfsigkeiten durch Exacerbationen des Prozesses kommen vor.

Qualität. a) Aussehen. α) Farbe.

Nachdem man sich über das quantitative Verhalten des zu untersuchenden Auswurfs orientiert hat, kann man zur Betrachtung seiner Qualität übergehen. Man prüfe zunächst sein Aussehen. Die Farbe des Auswurfs variiert je nach der Menge der morphologischen Bestandteile, Pigmentbildung etc. von einem graulichen Tone über grünlichgrau, schmutzig grün, grasgrün, grünlichgelb, gelb, gelbrötlich, rosa, rot, braun bis schwarz. Für gewöhnlich sieht das Sputum des Phthisikers graulich, oder grünlichgrau bis gelblich (Caverneneiter) aus. Gelbe (namentlich citronengelbe), gelbrötliche, rötliche, grünliche und grüne Verfärbungen beruhen meist auf Pigmentbildung durch Bakterien. [1]) Durch Beimengung von Blut wird je nach der Innigkeit der Mischung und auch bedingt durch Diffusion des Blutfarbstoffs resp. Veränderung desselben, das Sputnm eine rostfarbene, pflaumenbrühartige bis rotgestreifte oder scharlachrote bis schwarzrote oder bräunliche Farbe aufweisen. Dabei können verschiedene Teile des Sputums ganz verschiedene Farbe haben. Ist die Mischung mit Blut, resp. Durchtränkung mit Blutfarbstoff eine gleichmäfsige, so deutet dies darauf hin, dafs dieselbe bereits zu der Bildungsstätte des Auswurfs stattgefunden haben mufs. Eine schwarze Färbung des Auswurfs rührt meist von inhaliertem und mit dem Auswurf wieder expektorierten Kohlepigmente her. Bei Arbeitern in Farbstofffabriken

[1]) Sergio Pansini (Virch. Arch. Bd. 122 Hft. 3 p. 424) fand die gelbe und rötliche Färbung meist durch B. aureus, squamosus und zwei unbekannte Bacillen, sowie durch Sarcina lutea, aurantiaca, variegata verursacht. Als Erreger der grünlichen und grünen Verfärbung eruierte er B. pyocyaneus, B. fluorescens putridus, B. fluorescens non liquefaciens, zwei unbekannte Bacillen und einen Coccus.

kann der Auswurf auch je nach der Natur des fabrizierten Farbstoffs eine z. B. rote oder blaue (Ultramarin) Farbe erhalten. —

Des weiteren hat man über den Charakter des zu untersuchenden Auswurfs sein Urteil abzugeben. Nach dem Vorgange von Biermer („Die Lehre vom Auswurf", Würzburg 1855, p. 80) [1]) unterscheiden wir: „I. Das schleimige Sputum, welches entweder rein schleimig oder durch Beimischung von Speichel und serösen Exsudatbestandteilen wässerig-schleimig erscheint. II. Das schleimig-eiterige Sputum, welches entweder durch innige Mengung der Schleim- und Eiterteile homogen genannt werden kann — schleimig-eiteriges, innig gemengtes Sputum, oder durch nicht innige Mischung seiner Schleim- und Eiterteile, sowie gleichzeitig durch ein Überwiegen der eitrigen Bestandteile ausgezeichnet ist — eitrig-schleimiges, nicht homogenes Sputum. III. Das rein eitrige Sputum, welches überwiegend die Charaktere des puren Eiters besitzt. IV. Das blutige Sputum, welches zu unterscheiden ist: 1) in ein rein blutiges, hämoptoisches Sputum, 2) in ein blutig-tingiertes Sputum, 3) in ein innig mit Blut gemengtes Sputum. Letzteres kann wieder unterschieden werden, je nachdem das Blut mit zähschleimigem oder mit eitrigem, mehr flüssigem, oder mit serös-ödematösem Schleimhautsekret gemengt ist." β) Charakter.

Was nun die Bedeutung dieser verschiedenen Sputumformen anlangt, so weist ein rein schleimiger Auswurf auf einfachen Katarrh der Luftwege im ersten Stadium hin. Bei dem wässerig-schleimigen Sputum sind die schleimigen, als mehr oder weniger zarte graue Flöckchen oder derbere Ballen auftretenden, Bestandteile in einer wässerigen, dünnflüssigeren Grundmasse suspendiert. Häufig ist diese Sputumform mit gröfseren oder kleineren und dann meist äufserst zahlreichen Luftblasen durchsetzt, so dafs öfter das Sputum mit einer Schaumdecke überzogen erscheint. Die schleimigen Bestandteile stammen von den katarrhalisch erkrankten Luftwegen, die serösen Anteile dagegen entweder von den Speicheldrüsen (deren Sekret nach Biermer in den Kehlkopf aspiriert wird, dadurch neuen Hustenreiz anregt und wieder expektoriert wird) oder rühren von einer serösen Exsudation der Luftwege her (z. B. bei Bronchitis serosa). Im letzteren Falle ist der Schaum meist kleinblasig, während er bei zähen Sputen mit schwieriger Expektoration, bei denen die serösen Anteile fast ausschliefslich von den Speicheldrüsen geliefert werden, mehr grofsblasig ist. Der serös-schleimige Auswurf findet sich, wie Biermer hervorhebt, hauptsächlich bei mit Hustenparoxysmen einhergehenden Katarrhen, „wie z. B. bei Keuchhusten, hochgradigem Emphysem, idiopathischem Bronchospasmus", ferner z. B. bei Influenza — auch bei Tuberkulose ist er gar nicht so selten.

Das schleimig-eiterige, innig gemengte Sputum zeigt durch die innige Mengung seiner Bestandteile an, dafs dieselbe bereits auf der Schleimhautoberfläche erfolgt ist, da sich die einzelnen Bestandteile auf dem Wege zur Expektoration später nicht mehr leicht vermischen. Es findet sich hauptsächlich im zweiten Stadium des akuten und beim chronischen Bronchialkatarrh.[2])

---

[1]) Die folgende Darstellung lehnt sich durchaus an diese klassische Arbeit Biermers an. Der Verf.

[2]) Eine ganz besondere Form des rein schleimigen resp. schleimig-eitrigen innig gemengten Sputums ist mir bei vielen nach der Koch'schen Methode behandelten Fällen aufgefallen. Die reichlichen Sputa waren graulich bis graugelblich homogen,

Bei dem schleimig-eitrigem Sputum sinken die eitrigen Anteile entweder als sogenannte „münzenförmige“ Sputa in der wässerig-schleimigen Grundmasse des Auswurfs zu Boden, ohne sich zu vermischen, oder sie sind nur anfangs noch (gleich nach der Expektoration) zu trennen, konfluieren dann aber zu einem homogenen Sediment, „über welchem eine dünnere serös-schleimige, oft schmutziggefärbte Schicht sich befindet, in welcher lufthaltige katarrhalische Flocken schwimmen (Biermer l. c. p. 85). Besonders wenn die serös-schleimigen Beimengungen gering sind, ist man gewohnt, die „münzenförmigen“ Sputa als charakteristisch für Kavernen anzusprechen. Es repräsenticrt diese Form das eigentliche Kavernensputum. Die konfluierenden geschichteten Sputa finden sich dagegen bei Bronchitis purulenta vor allem bei grofsen Bronchiektasien, ferner bei grofsen Kavernen und werden oft in grofsen Quantitäten („maulvolle Expektoration“) entleert. Das Sputum riecht dabei äufserst foetide und reagiert mitunter (aber durchaus nicht immer) sauer (Fettsäuren?).

Der rein eitrige Auswurf ist selten. Nach einiger Zeit trennen sich die zelligen Elemente als Bodensatz von dem darüber stehen bleibenden Serum. Es findet sich meist bei Lungenabszefs, aber auch bei in die Lunge perforierende Empyemen oder Leberabszessen. In letzterem Falle ist mehrfach eine ockergelbe Färbung beobachtet (Leyden u. a.). Der rein eitrige Auswurf wird gewöhnlich plötzlich in sehr grofsen Massen entleert.

Das rein blutige, hämoptoische Sputum zeigt eine hell- bis dunkelrote oder schwarzrote oder eine chokoladenbraune bis schwarzbraune (kaffeesatz-artige) Farbe. Es wird entweder noch flüssig oder mehr oder weniger bereits geronnen und zwar dann in klumpigen Massen entleert. Oft ist esdurch beigemengte Luft ganz schaumig. Sehr schwierig ist es mitunter, zu entscheiden, woher das Blut stammt. Es kann entweder aus dem Magen oder dem Respirationstrakt: Lungen, Trachea, Larynx, Pharynx, Mund, Nase stammen. Bei Magenblutungen ist das Blut meist schwärzlich, kaffeesatzartig, flüssig oder teilweise locker geronnen, teilweise auch wohl mit Mageninhalt vermengt. Ist aber eine gröfsere Magenarterie arrodiert, so wird das massenhafte, schnell erbrochene, ev. dabei in den Kehlkopf aspirierte und dann durch den ausgelösten Hustenreiz scheinbar ausgehustete Blut auch arteriell hellrot erscheinen können. Das Blut bei Magenblutung kann ev. sauer reagieren. Bei Lungenblutungen ist das entleerte Blut dagegen meist mehr hellrot, oft mit Schaum gemischt. Es gerinnt beim Stehen meist vollkommener und gleichmäfsiger als das aus dem Magen stammende Blut. Den Blutkuchen findet man meist mit mehr oder weniger grofsen Hohlräumen (als Ausdruck für die bei der Gerinnung eingeschlossenen Luftbläschen) durchsetzt. Die Gerinnbarkeit des Blutes ist aber individuell verschieden z. B. bei Chlorose, Skorbut, Hämophitis etc. herabgesetzt. In den nächsten Tagen nach einer gröfseren Lungenblutung werden gewöhnlich noch gröfsere oder kleinere schwärzliche, klumpige Blutgerinnsel unter Husten entleert.

Man hat ferner daran zu denken, dafs das Blut auch aus der Nasen-resp. Mundhöhle (Zahnfleisch etc.) dem Rachen (bei akuter, vor allem aber chronischer Pharingitis) stammen könnte. Blutungen aus der Trachea und dem Larynx werden meist nicht diagnostiziert. Dafs die Blutung nicht aus den Lungen kommt, kann man oft nur per exclusionem bei negativem Lungenbefund schliefsen.

wie gelatinös und crinnertcn mich durch ihr Ausschen am mcisten an gewissc durch künstliche Infektion erzeugte unreinc gallertige Ödeme des Untcrhautzellgewebes bei Tieren.

Die Lungenblutung ist entweder kapillar oder entstammt gröfseren Gefäfsen. Kapillarblutungen finden sich bei Krankheiten, welche Stauungen in den Lungen und dadurch Extravasation bedingen, bei brauner Induration, hämorrhagischem Infarkt, bei chronischer Pneumonie, Tuberkulose, aber auch bei gewöhnlicher Bronchitis und Pneumonie. Die Blutung aus gröfseren Gefäfsen erfolgt, wenn diese arrodiert werden, resp. wenn aneurysmatische Erweiterungen derselben platzen; sie findet sich daher bei mit Ulceration verbundenen Erkrankungen der Lungen, so bei tuberkulöser Bronchitis, bei tuberkulösen Kavernen, Bronchitis ulcerosa, Bronchiektasie, Lungengangrän, Lungenabszefs etc.; ferner durch Platzen von Gefäfsen (z. B. bei Aneurysma) durch Überanstrengung oder direkt traumatisch durch Stofs, Quetchung etc.

Bei dem blutig-tingierten Sputum findet sich das Blut als Fleckchen oder langgezogene Streifen dem schleimigen, schleimig-eitrigen oder eitrigen Auswurf beigemischt. Man mufs an Tuberkulose denken, wenn Blut sich regelmäfsiger im schleimig-eitrigen nicht gleichmäfsig gemengten Sputum findet (mitunter als Vorläufer einer gröfseren Lungenblutung!) Es kann sich aber auch z. B. bei Pharyngitis chronica, Laryngitis, Tracheitis und im Resolutionsstadium der Pneumonie finden.

Das innig mit Blut gemengte Sputum ist verschieden je nach der Grundform des Sputums, mit dem das Blut sich gemengt hat. Biermer unterscheidet daher a) das schleimig-blutige Sputum bei dem die Mengung von Blut und Schleim bereits an der Bildungsstätte des letzteren erfolgt. Es bildet eine mehr oder weniger zähe Masse von gröfserer oder geringerer Transparenz, der Farbe nach gelb bis gelbrot, rostfarben bis rötlichbraun und mit wechselndem Gehalt an Luftblasen. Es findet sich bei der Entzündung der Alveolen und der kleinsten Bronchien, vorzüglich bei der croupösen Pneumonie, aber auch bei der braunen Induration und Lungeninfarkt.

b) Das serös-blutige Sputum entsteht durch die innige Mischung von Blut und serösen Exsudationen in die Alveolen-Bronchien etc., welche aber auch, da sie leichter erfolgt, in gröfserem Raume vor sich gehen kann, als bei dem schleimig-blutigen Sputum. Es ist dünnflüssig, oft mit viel Schaum, weinhefefarben, „pflaumenbrühartig", dunkelbraun bis schwärzlich und findet sich bei Pneumonie hauptsächlich bei zutreten dem Lungenödem (ferner bei Bronchitis, wenn hämorrhagische Diathese besteht).

c) Das eitrig-blutige, innig gemengte Sputum bildet sich durch innige Mengung eines vorwiegend eitrigen Sputums mit Blut resp. Blutbestandteilen in gröfseren Hohlräumen, Kavernen, Bronchektasien etc. Da der Auswurf in diesen oft längere Zeit stagniert, zersetzt sich der Blutfarbstoff mehr oder weniger und färbt dann das Sputum diffus. Biermer unterscheidet zwei Formen. Bei der ersten ist das Sputum ganz gleichmäfsig durch seine ganze Dicke hindurch schmutzigrot gefärbt; bei der zweiten dagegen ist ein schmutzigrotes Centrum von einer deutlicher rot gefärbten Peripherie umgeben. Beide Formen verdanken ihre Entstehung Ulcerationsprozessen in den Lungen; die letztere Form trifft man hauptsächlich bei kleineren frischen Kavernen, in welchen er noch nicht zur Stagnation und Verjauchung der Wandungen gekommen ist. Sie finden sich bei Tuberkulose mit frischer Cavernenbildung und Lungengangrän.

Alle diese geschilderten Sputumformen können bei Tuberkulose der Lungen zur Beobachtung kommen. Über das Verhältnis und die Beziehungen der einzelnen Formen zu den verschiedenen Stadien des tuberkulösen Prozesses ist folgendes zu bemerken:

Bei der Miliartuberkulose fehlt der Auswurf entweder noch ganz oder zeigt die Charaktere einer akuten resp. subakuten Bronchitis, zuweilen mit Blutbeimengungen. Tuberkelbacillen und elastische Fasern fehlen fast durchweg, ausgenommen den Fall, dafs gleichzeitig ältere tuberkulöse Erweichungsherde bestehen.

Bei der akuten tuberkulösen Infiltration ist der Auswurf entweder mehr wie bei Bronchitis acuta oder bei Pneumonie. Falls diese sich einem schon bestehenden älteren tuberkulösen Prozefs hinzugesellte, verdeckt und verwischt sie zunächst die Charaktere des schon bestehenden Auswurfs. Später nimmt der Auswurf dann je nach dem Ausgang der Infiltration in akuten Zerfall oder in chronische Tuberkulose, mehr die Charaktere des Sputums frischer Kavernen, Lungengangrän oder der chronischen Tuberkulose an. Tuberkelbacillen und elastische Fasern sind, namentlich erstere, wohl meistens nachweisbar; bei akuter Einschmelzung können die Tuberkelbacillen sehr zahlreich werden.

Die chronische Tuberkulose signalisiert sich zumeist durch eine „initiale“ Hämoptoë, bedingt durch einen hämorrhagischen Katarrh, welche jedoch auch fehlen kann. Der Auswurf zeigt mehr oder weniger die Charaktere eines akuten, subakuten oder chronischen Bronchialkatarrhs. Schon vor Auftreten der Hämoptoë können sich Tuberkelbacillen und elastische Fasern finden. Sowie sich dann durch Zerstörung des Parenchyms gröfsere Kavernen bilden, erhält der Auswurf die Charaktere des Kavernensputums (die elastische Fasern und namentlich die Tuberkelbacillen werden oft sehr reichlich). Bei Heilung wird der schleimig-eitrige Auswurf immer mehr schleimig bis wässerig-schleimig und schwindet schliefslich ganz. (Dabei nehmen auch elastische Fasern und Tuberkelbacillen an Zahl immer mehr ab.)

Durch Komplikation des tuberkulösen Prozesses durch Mischinfektion wird der Auswurf ungemein vielgestaltig. Vielleicht sind alle, oder wenigstens doch die meisten Zerfallsprozesse bei Lungentuberkulose auf Mischinfektion zurückzuführen.

b) Konsistenz. Die Konsistenz der Sputa ist je nach ihrer Zusammenstellung sehr verschieden. Wässerig-schleimige Sputa sind meist ganz dünnflüssig, während schleimig-eitrige und eitrige Sputa viel konsistenter sind, so dafs man oft das Gefäfs mit dem Sputum umdrehen kann, ohne dafs auch nur ein Teil herausfliefst. Gewisse rein schleimige, d. h. viel Mucin enthaltende Sputa sind sehr zäh, wie gallertig, und stellen eine in sich zusammenhängende Masse dar, von der sich Teilchen schwierig abtrennen lassen. Dagegen besitzen gewisse eitrige Sputa eine mehr schmierige Konsistenz und lassen sich daher auch viel leichter bei der Untersuchung weiter behandeln.

c) Geruch. Gewöhnliche tuberkulöse Sputa haben meist gar keinen oder nur einen sehr schwachen, faden Geruch. Bei Komplikationen dagegen z. B. mit Bronchitis putrida oder Lungengangrän, perforierten jauchigen Empyemen etc. kann ein höchst intensiver fötider, penetranter, geradezu pestilenzialischer Geruch der Sputa sich unangenehm bemerklich machen.

d) Reaktion. Die Reaktion des tuberkulösen Auswurfs ist meist neutral oder schwach alkalisch. Gewisse konfluierende geschichtete Sputa z. B. bei Bronchitis putrida reagieren dagegen sauer (cf. p. 6).

KAPITEL II.

Die Vorbehandlung des Präparates.

a) Auswahl des zu untersuchenden Partikelchens.

Nachdem man das auf Tuberkulose verdächtige Sputum der makroskopischen Untersuchung unterworfen, kann man zu der mikroskopischen Prüfung, vornehmlich auf Vorhandensein von Tuberkelbacillen übergehen.[1] Da, wie wir in dem vorhergehenden Kapitel gesehen haben, das Sputum eine in sich meist völlig ungleichartige Masse darstellt, so ist es natürlich nicht gleichgültig, aus welchem Teile des Sputums man das zur Untersuchung bestimmte Partikelchen entnimmt. Die Tuberkelbacillen finden sich nun vorzüglich in den dichteren zellreicheren, makroskopisch undurchsichtigeren Partieen des Sputums. In den wässerigen Teilen fehlen sie oft gänzlich oder sind nur zufällig in diese hineingeraten. Man wird also den dichteren, nicht durchscheinenden Partieen seine ganz besondere Aufmerksamkeit zuwenden müssen. Man thut aber gut, nicht blofs Teilchen von einer einzigen Stelle des Sputums zu entnehmen, sondern aus möglichst verschiedenen Teilen Präparate anzufertigen, um sich eine gewisse Übersicht über die einzelnen Bestandteile und die Verteilung der Tuberkelbacillen zu verschaffen.

Die Entnahme des Probepartikelchen ist oft mit grofsen Schwierigkeiten verbunden. Falls das zur Untersuchung bestimmte Sputum spärlich ist, gelingt sie noch relativ leicht, selbst bei sehr zähen Sputen. Ist das Sputum aber reichlich, so ist die Entnahme aus den gewöhnlichen Gefäfsen und Gläsern, in denen man die Sputa zur Untersuchung zumeist erhält, oft recht schwierig, indem die halbflüssig-zähen Massen, welche man an der Innenwand des Glases in die Höhe zu ziehen sucht, um ein geeignetes Partikelchen abzutrennen, immer wieder in das Gefäfs hinabgleiten. In diesem Falle ist es sehr zweckmäfsig und vor allem auch die Übersicht erleichternd, wenn man das Sputum in ein flaches Gefäfs, auf dessen Boden es sich ausbreiten kann, ausschüttet. Man bedient sich dazu entweder gläserner Schalen und untersucht dann über einer schwarzen Unterlage, oder noch besser benutzt man schwarzgestrichene Teller oder schwarze Schalen von Papier maché etc. Auf der dunklen Unterlage markieren sich alle dichteren Teile des Sputums scharf als mehr oder minder dunkle Trübungen oder weifslich- bis graulich-opake Massen. Pfeiffer (Berl. Kl. Wochenschr. 1883 Nr. 3 p. 33) empfiehlt noch (nach Long) das zu untersuchende Sputum (von 10—20 gr) in Glasschälchen zu bringen, welche 5—6 ccm Aqu. dest. mit 3—4 Tr. Ätzkalilauge (33 %) enthalten. Nach ca. ½ St. ist das Sputum ziemlich zerflossen, die Luftblasen zergangen. Die dichteren Teile des Sputums, welche hauptsächlich die Tuberkelbacillen zu führen pflegen, markieren sich dann auf dunklem Grunde deutlicher.

Hierbei findet man dann auch am leichtesten jene als „Linsen" oder Reiskörperchen, „corpora oryzoidea", bekannten rundlich-platten Gebilde, „weifsglänzende Schüppchen", welche käsige Bröckel der Kavernenwand darstellen. Sie machen mitunter genau den Eindruck, als ob sie den total verkästen Inhalt eines vergröfserten Alveolus darstellten; andere dagegen von mehr unregelmäfsiger Gestalt und zernagter Ober- „Linsen".

[1] Auf die mikroskopische Untersuchung des Auswurfs im ungefärbten Zustande gehen wir hier nicht weiter ein.

fläche sind mit Sicherheit als abgestofsene Bröckel der destruierten Kavernenwand aufzufassen. Sie bestehen meist aus einer vollkommenen Reinkultur von Tuberkelbacillen, welche eingebettet sind in eine mehr oder minder körnige Grundsubstanz. Man hat deswegen ganz allgemein empfohlen, auf sie besonders behufs Anlegung von Tuberkelbacillen-Deckglaspräparaten zu fahnden (zuerst wohl Pfeiffer l. c.). Sie sind aber in der That gar nicht so übermäfsig häufig. Sie finden sich naturgemäfs nur in den vorgeschritteneren Fällen von Phthisis mit Kavernenbildung. In diesen kann man die Diagnose auf Tuberkulose unschwer auch mit den physikalischen Untersuchungsmethoden stellen. Wo sie vorhanden sind, weisen sie jedenfalls auf einen bestehenden Destruktionsprozefs hin. Man hüte sich übrigens vor makroskopischen Verwechselungen mit aus den Lakunen der Tonsillen stammenden Pfropfen und — mit Speiseresten. Erstere sind meist mehr gelblich, oft fast traubig gelappt, mit glatter glänzender Oberfläche und sehr übelriechend, während die „Linsen" mehr grauliche weifse Schüppchen darstellen und dem Verreiben einen viel gröfseren Widerstand entgegensetzen als die leicht zusammendrückbaren schmierigen Lakunarpfröpfe. Mikroskopisch erwiesen sich diese als grofsenteils aus einer Unmenge von Mikrobien (Coccen und Leptothrix) bestehend, welche in einer detritusartigen Masse eingebettet sind. Speisereste lassen sich, spätestens bei der mikroskopischen Untersuchung, unschwer als solche erkennen.

Will man eine gewisse Übersicht über die Verteilung der Tuberkelbacillen im Sputum, so verzichte man jedenfalls auf die „Linsen". In einer Linse kann man Millionen von Tuberkelbacillen finden, während im ganzen übrigen Sputum vielleicht ganz wenige vorhanden sind. — Da die Tuberkelbacillen nun sehr ungleich im Sputum verteilt sind, kann man vielleicht zufällig sehr wenige in dem angefertigten Präparate zu Gesichte bekommen, während an anderen Stellen des Sputums sehr viele vorhanden sind.

Homogenisieren und Sedimentieren des Sputums.

Homogenisieren. Man hat infolgedessen vorgeschlagen, das Sputum „homogen" zu machen, um so in allen Teilen desselben eine möglichst gleichmäfsige Verteilung der Tuberkelbacillen zu bewirken. Man thue zu diesem Zwecke das zu homogenisierende Sputum in ein möglichst hohes, aber schmales, verschliefsbares Gefäfs, am besten in einen graduierten Mefscylinder mit eingeschliffenem Glasstopfen von ca. 100 und mehr ccm Inhalt und gebe die doppelte bis dreifache Menge von Wasser, physiologische Kochsalzlösung, 10% Kalilauge oder Wendriner's Boraxborsäurelösung (s. d.) [1]) hinzu. Das verschlossene Gefäfs wird nun geschüttelt, bis der Inhalt ganz gleichmäfsig homogen, weifsgrau bis graugelblich, erscheint. Der benutzte Cylinder mufs möglichst hoch sein, damit die geschüttelte Flüssigkeit grofse Exkursionen macht, was die Homogenisierung bedeutend erleichtert. Nach der Benutzung ist der Cylinder möglichst bald zu reinigen, da der Glasstopfen sonst schwer zu entfernen ist. Zur Reinigung bedient man sich zuerst 20% iger Kali- oder Natronlauge und darauf 5% iger Karbolsäure.

[1]) Kühne (Cbl. f. Bakt. 1890 Nr. 10 p. 296) rät zur Erleichterung des Verreibens zähes stark fadenziehendes Sputum mit einer konz. Lösung von Borax, geballtes Kavernensputum dagegen mit einer konz. Lösung von kohlensaurem Ammoniak in bestimmtem Verhältnis zu versetzen. Das Ammoniaksalz verflüchtigt sich schon teilweise beim Erhitzen des Deckglases und wird später von der Säure gelöst. Mit Boraxlösung versetzte Sputa halten sich sehr lange ohne in stinkende Fäulnis überzugehen. Die Tuberkelbacillen bleiben darin lange nachweisbar.

Amann (Die mikroskopische Sputumuntersuchung. Davos Hugo Richter 1891 p. 17) verreibt das Sputum resp. Teile desselben zwischen mattgeschliffenen Glasplatten, bis eine gleichmäfsige Masse erzielt ist. Abgesehen davon, dafs eine Verreibung gröfserer Sputummengen auf diese Weise doch wohl ausgeschlossen ist, ist auch durch diese wie durch alle anderen Methoden keine absolut gleichmäfsige Verteilung der Tuberkelbacillen zu dem homogenisierten Sputum zu erzielen.

Man hat die Methode der Homogenisierung des Sputums auch zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an Tuberkelbacillen benutzt (cf. Stroschein, Mitt. a. Dr. Brehmers Heilanstalt 1889 und Amann l. c.), worüber später. Aufserdem gewährt die Methode den Vorteil, dafs man leichter gleichmäfsig dünne Präparate herstellen kann, wodurch die Tuberkelbacillen mehr in eine Ebene fallen. Man erhält dadurch sehr elegante, zu Demonstrationen geeignete Bilder, ganz abgesehen von gewissen weiter unten zu erwähnenden Vorteilen.

Hat man mehrfach vergeblich auf Tuberkelbacillen untersucht, so kann man noch den Versuch machen, etwaige im Sputum vorhandene spärliche Tuberkelbacillen, indem man sie auf einen kleinen Raum konzentriert, zur Darstellung zu bringen. Man läfst zu diesem Zwecke das homogenisierte Sputum sedimentieren und untersucht das eingeengte Sediment. Biedert (Berl. Klin. Wschr. 1886 Nr. 42 u. 43, Biedert Berl. Klin. Wschr. 1891, Nr. 2 p. 32, Mühlhäuser D. Med. Wschr. 1891, Nr. 7 p. 282) empfahl dazu, das Sputum mit verdünnter Natronlauge zu versetzen, das mit Wasser weiter verdünnte durch Kochen zu homogenisieren und sedimentieren zu lassen. Das Verfahren hat den Übelstand, dafs 1) das Tinktionsvermögen, wenn auch nicht aller, so doch vieler Tuberkelbacillenexemplare leidet,[1]) und dafs man 2) zur Herstellung der Präparate eine Fixierungsflüssigkeit z. B. Eiweifs braucht. Viel schonender sind natürlich die Methoden, welche ohne Kochen und mit Mitteln, welche den Tuberkelbacillus selbst nicht angreifen, eine Homogenisierung des Sputums erlauben. Wasser empfiehlt sich zur Homogenisierung nicht, ebensowenig Kochsalzlösung, da beide eine, zumal im Sommer oft schnell eintretende, weitere Zersetzung des Sputums nicht hindern. Verwendet man Kali- oder Natronlauge, so läuft man Gefahr, die Tinktionsfähigkeit einzelner Tuberkelbacillen zu schädigen. Am besten erscheint mir in Übereinstimmung mit Stroschein (l. c.) die von Wendriner (Allgem. Med. Centralzeit. 1889 Nr. 8 p. 161) für die Konservierung eiweifshaltiger Urine empfohlene Boraxborsäurelösung zu sein. Sedimentionen.

Mit ihr homogenisierte Sputen halten sich scheinbar unbegrenzt lange unzersetzt. Doch scheint es mir, dafs bei sehr langer Aufbewahrung die Färbbarkeit der Tuberkelbacillen doch alteriert wird. Die Sedimentation ist in 24 Stunden fast als beendet anzusehen, wenigstens sind die

[1]) In neuester Zeit ist es Th. Weyl (D. Med. Wschr. 1891 Nr. 7 p. 257) gelungen, aus dem Körper der Tuberkelbacillen mit verdünnter Natronlauge eine gewisse von ihm Toxomucin genannte Substanz zu extrahieren und von den noch die spezif. Farbenreaktion gebenden Hüllen zu trennen. Schon aus diesem Umstand, dafs der Tuberkelbacillus selbst angegriffen wird, erscheint uns die Anwendung von Laugen zur Homogenisierung und Sedimentierung nicht ganz unbedenklich, da die Methode doch wohl bezwecken soll, möglichst viele Tuberkelbacillen und zwar auch die nicht mehr ganz intakten Exemplare zur Anschauung zu bringen. cf. auch Hammerschlag (Cbl. f. kl. Med. 1891 Nr. 1), welcher in Übereinstimmung mit Biedert selbst eruierte, dafs nach Laugenbehandlung die Tuberkelbacillen vor allem schlecht Alkohol nach Säure vertragen.

oberen Schichten bacillenfrei. cf. Biedert (l. c.). Ganz abgelaufen ist der Prozefs der Sedimentation nach Biedert (l. c.) aber erst nach 48 Stunden.

Man mache es sich zum Gesetz, die Sputa möglichst schnell nach der Expektoration zu untersuchen! Versäumt man dieses, so verliert man vollständig die Beurteilung darüber, in welchem Zustande das Sputum bei der Expektoration herausbefördert wurde. Es entwickelt sich schnell eine Unzahl Mikrobien, teilweise Luftkeime, welche dann keinen Schlufs mehr gestatten auf die Zahl und Arten der bei der Expektoration im Sputum vorhanden gewesenen, also wirklich dem Körper entstammenden Mikrobien. Bei der Weiterentwickelung der Mikrobien geht das Sputum tiefgreifende Veränderungen ein, es wird teilweise peptonisiert, flüssig; die Zellen werden dabei zerstört; oft tritt eine grüne Färbung des Sputums durch Entwickelung von in die Fluoreszenzgruppe gehörenden Bacillen ein. Auch gelbe oder noch seltener rötliche Verfärbungen durch Mikrobienentwickelung wurden beobachtet (cf. p. 4). Bei längerem Stehen leidet entschieden die Tinktionsfähigkeit der Tuberkelbacillen, wenigstens vieler Exemplare derselben. — Ja mitunter ist der Verdacht nicht ganz abzuweisen, dafs sich nach längerem Stehen des Sputums Tuberkelbacillen auch in der Gegenfarbe färben (Biedert und Sigel, Virch. Arch. 1884 Bd. 98 p. 99).

b) Anfertigung des Präparates.

Nachdem man sich über das zur Untersuchung zu entnehmende Partikelchen orientiert hat, handelt es sich zunächst darum, dasselbe aus der zähflüssigen Sputummasse zu isolieren. Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 7) empfahl dazu sich eines Skalpells zu bedienen, andere schlugen Präpariernadeln zu diesem Zwecke vor. Ehrlich (Charité-Annalen 1886 XI p. 135) nimmt dazu Federhalter mit halbseitig durchbrochener Feder. Noch andere ziehen es vor, das gewünschte Partikelchen mit der Pinzette aus dem Sputum herauszukneifen (Balmer-Fräntzel, Berl. Klin. Wschr. 1882 Nr. 45 p. 680). Die Wahl des Instruments ist dabei ziemlich Geschmackssache. Doch ist es immerhin angenehm ein Instrument zu haben, welches einerseits eine so breite Fläche hat dafs man bei flacher Haltung desselben mit sanftem Druck Sputumpartikelchen damit auch an der inneren Wand des Glases emporziehen und später verreiben kann, und das anderseits auch eine Schneide besitzt, mittelst deren man die gewünschten Teile abschneiden kann. Gut ist es jedenfalls, wenn das Instrument in der Flamme nach der Benutzung ausgeglüht und auf diese Weise sterilisiert werden kann. Ich bediene mich daher ausschliefslich kleiner Platinspatel (cf. v. Sehlen, Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. IV p. 725). Da dieselben bei genügender Elastizität doch verhältnismäfsig sehr dünn sind, kühlen sie natürlich nach dem Glühen sehr viel schneller wieder ab als die bedeutend dickeren Skalpelle und Federn oder Pinzetten. Man braucht daher nicht solange auf das Abkühlen zu warten.

Man stellt sich diese Platinspatel sehr leicht selbst her, indem man eine in einen Glasstab eingeschmolzene dicke Platinnadel an ihrem freien Ende schaufelförmig auf dem Ambofs mit leichtem Hammer kalt aushämmert. Etwaige Unregelmäfsigkeiten des Randes rundet man nachträglich mit der Schere ab. Nach dem Gebrauch glühe man die Platinspatel natürlich sofort wieder aus. Gewöhnlich sind einige Sputumreste an dem Platin hängen geblieben. Wird nun das Platin schnell glühend gemacht, so

zeigen dieselben oft das Phänomen des Leidenfrostschen Tropfens und springen leicht mit einer kleinen Explosion von der glühenden Platinoberfläche ab. Um dies Verspritzen von vielleicht doch noch infektiösem Material zu vermeiden, erhitze man daher den Platinspatel langsamer; dann backen beim Verdunsten des Wassergehalts die Sputumreste am Spatel an und verbrennen an ihm.

Um das entnommene Sputumpartikelchen der mikroskopischen Betrachtung mit stärkeren Vergröfserungen zugänglich zu machen, mufs man dasselbe zu einer recht dünnen durchsichtigen Schicht auszubreiten suchen. Man pflegt es daher auf Deckgläsern möglichst dünn zu verreiben, wie etwa zur Blutuntersuchung (Friedländer).

Für die Deckgläser empfahl Ehrlich eine Dicke von 0,1—0,12 mm.[1]) Da die meisten neueren Systeme auf eine bestimmte Deckglasdicke korrigiert sind, so thut man gut, sich der Deckgläser von dieser Dicke zu bedienen. Die gangbarste Dicke ist 0,15—0,17. Dickere Deckgläser erschweren leicht die Einstellung des Präparates in allen seinen Ebenen (besonders bei Schnitten); dünnere zerbrechen zu leicht. Als Gröfse empfiehlt sich 18 mm □. Vor dem Gebrauch sind die Deckgläser subtil zu reinigen. Den aus der Fabrik bezogenen Deckgläschen haftet meist noch eine leichte Trübung, der sog. Hüttenrauch, fest an. Man entfernt denselben nach Bachmann (Leitfaden zur Anfertigung mikroskopischer Dauerpräparate, München, B. Oldenburg), indem man sie auf 10 Minuten in ein Gefäfs mit konzentrierter Schwefelsäure bringt und dann mit Wasser auswäscht bis zum Verschwinden der sauren Reaktion (Lakmuspapier!). Die Gläser werden dann auf Fliefspapier getrocknet und mit einem weichen Leinwandlappen vorläufig gereinigt. Unmittelbar vor dem Gebrauche putze man dieselben nochmals mit einem trocknen weichen Lederlappen. Leinwandlappen sind wegen sich ablösender Fasern, welche das Präparat verunreinigen, zu vermeiden. R. Koch (Mitt. a. d. Kaiserl. Ges. II p. 6) empfahl zu gleichem Zwecke Spülen in Salpetersäure und Reinigen in Alkohol, um Fett und ähnliche Verunreinigungen zu entfernen, da diese das Haften der zu untersuchenden Substanz beeinflussen könnten. Dieselben bewirken auch leicht störende Farbstoffniederschläge. Löffler, Cbl. f. Bakt. 1870 Nr. 20 p. 633, erwärmt die Deckgläschen in konzentrierter Schwefelsäure, spült sie mit Wasser ab und läfst sie aus Alkoholammoniak (âà part. aequ.) mit einem reinen fettfreien Tuche putzen. —

In letzter Zeit hat man mehrfach empfohlen, direkt auf dem Objektträger die Sputumschicht zu verreiben und weiter zu behandeln. Einige empfehlen sogar, die Deckgläser ganz wegzulassen und das Objektträgerpräparat unbedeckt zu untersuchen. Dies empfiehlt sich schon aus dem Grunde nicht, weil unsere modernen Systeme, wie schon erwähnt, auf eine gewisse Deckglasdicke korrigiert sind. Andere machen geltend, dafs man auf dem Objektträger eine viel gröfsere Fläche zur Untersuchung verteilen kann, als auf dem viel kleineren Deckglas. Sie schlagen vor, nur ein Deckglas zu benutzen und dieses von Stelle zu Stelle weiterzuschieben, um den ganzen Objektträger zu durchmustern. Dies ist oft nicht ganz leicht, da sich das Deckgläschen meist nicht gut verschieben läfst und sich dabei Teile der angetrockneten Sputumschicht ablösen. Übrigens genügt ja die viel kleinere Deckglasfläche eines einzigen Präparates gewöhnlich vollkommen für die Diagnose. Der Vorschlag, Objektträger statt Deck-

---

[1]) Im Original steht 0,01—1,012 mm, wohl durch Druckfehler.

gläser zu benutzen scheint theoretisch gewifs manche Vorteile zu bieten. Bei der praktischen Ausführung hat er aber grofse Übelstände. Erstens können die Präparate nie so gleichmäfsig behandelt werden, wie die Deckglaspräparate, da die Objektträger schon wegen ihres gröfseren Formats für alle Manipulationen viel unhandlicher sind. Sie sind ferner viel dicker als die Deckgläser, kühlen daher schwerer ab. Nach meinen Erfahrungen muss ich jedenfalls von der Objektträgermethode dringend abraten. Ich habe dabei einen ganz bedeutenden Verlust an Tuberkelbacillen gegenüber gleichbehandelten Deckglaspräparaten zu verzeichnen gehabt. Das ist aber doch für die Diagnose der Tuberkulose wesentlich, keine vorhandenen Tuberkelbacillen zu verlieren. Ob bei der Untersuchung auf Deckgläsern vielleicht auch einmal einige Deckgläschen zerbrechen, darauf kann es hierbei demgegenüber nicht ankommen. —

Verreiben. Auf dem gut gereinigten Deckgläschen wird das entnommene Sputumpartikelchen nun so sorgfältig wie möglich ausgebreitet. Um dies zu ermöglichen, nehme man das Sputumpartikelchen möglichst klein. Nur so gelingt es, dasselbe wirklich dünn auszubreiten. War dasselbe zu grofs, so lassen sich nachher die dickeren Stellen der ungleichmäfsig ausgefallenen Sputumschicht schwer oder gar nicht entfärben. Man mufs also die dünneren Stellen den zu dicken zuliebe unnötig einer längeren forcierten Entfärbung aussetzen. Darunter leidet naturgemäfs die Färbung. Je dünner und gleichmäfsiger die Sputumschicht ausfällt, um so schöner, klarer und gleichmäfsiger wird das Bild. Man hat dabei zudem noch den Vorteil, dafs bei einer dünneren Schicht die in derselben enthaltenen Bacillen naturgemäfs mehr in eine Ebene fallen und daher gleichzeitig, ohne vieles Einstellen mit der Mikrometerschraube, wahrgenommen werden können. Die schönsten Bilder erhält man von homogenisierten Sputen.

Die Art, wie die Ausbreitung des Sputumpartikelchens vorgenommen wird, ist gleichgültig, wenn dieselbe nur wirklich gleichmäfsig erfolgt, wozu es eben unbedingt notwendig ist, dafs das Partikelchen nicht zu grofs genommen wird. Hat man zuviel von dem Sputum aufs Deckglas gebracht, so nehme man lieber das Überflüssige wieder fort und verreibe den Rest, als dafs man sich mit der zu grofsen Menge das Präparat verdirbt. Die einen ziehen es vor, das Sputumpartikelchen zwischen zwei Deckgläschen zu zerquetschen (Ehrlich, D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270) und dann bei dem Wiederauseinandernehmen der beiden Deckgläschen dadurch auf der Oberfläche derselben zu verteilen. Man zieht zu diesem Zwecke die Deckgläschen mit den Fingern oder Pinzetten (Ehrlich, Charité-Annal. 1886 Bd. XI p. 135) voneinander ab in parallelbleibender Richtung, vermeide aber, dieselben etwa voneinander abzuheben. Im ersteren Falle erhält man eine dünne Lage des Sputums, im letzteren Falle dagegen schnurren die abgerissenen abgehobenen Teile zu unförmlichen Strängen oder Klumpen zusammen. Der Vorteil der Methode ist, dafs man gleichzeitig 2 Präparate bekommt. Als Nachteil der Methode ist es zu bezeichnen, dafs die Ausbreitung des Sputums oft nicht einmal im einzelnen Deckglaspräparat gleichmäfsig gelingt. Mitunter findet man in dem einen der beiden Zwillingspräparate viele Bacillen, im andern wenig, viel-

leicht keine. Man **soll** daher stets **beide** Präparate untersuchen. (Biedert und Sigel, Virch. Arch. 1884 Bd. 98 p. 99.)

Andere verreiben das Sputumpartikelchen auf dem Deckglas mit dem Skalpell (Koch, M. K. Ges. II, p. 7). Ich verwende auch zu diesem Zwecke den oben erwähnten Platinspatel. Vor dem Skalpell hat er 1) den Vorzug, etwas federnd elastisch zu sein; 2) läfst er sich bequemer ausglühen, und kühlt 3) wegen seiner geringen Dicke nach dem Glühen viel leichter ab, so dafs man nicht so lange auf das Abkühlen zu warten braucht und nicht so leicht in Gefahr gerät, mit nicht genügend abgekühltem Instrument das Präparat zu verbrennen.

Man verreibt das Sputum auf dem Deckgläschen, indem man das letztere entweder auf den Tisch legt oder mit Daumen und Zeigefinger der linken Hand gefafst hält. Dieses setzt natürlich gröfsere Übung voraus, gestattet aber auch eine bessere Beurteilung über die Ausbreitung der Sputumschicht, zumal wenn man bei schiefer Beleuchtung des Deckglases auf die Spiegelung genau achtet. Einen etwaigen Überschufs von Sputum sucht man nach einer Ecke zu bringen und entfernt ihn von dort mit dem verreibenden Instrumente oder mit Fliefspapier (Koch ibidem), das man dann verbrennt.

Das Verreiben der Sputa ist je nach der Art derselben verschieden schwierig. Die wässerigen Sputa haften nicht gut am Deckglase. Vielleicht am leichtesten gelingt das Verreiben und Verstreichen der rein eitrigen, schmierigen „Kavernensputa“. Den gröfsten Widerstand pflegen beim Verreiben gewisse glasige Sputa der Behandlung entgegenzusetzen. Man kann sich da mitunter ganz zweckmäfsig dadurch helfen, dafs man das zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand gefafste Deckgläschen hoch über einer Flamme bewegt und unterdessen mit dem von der rechten Hand geführten Skalpell oder Spatel verreibt. Es genügt auch, das Deckgläschen über die Flamme zu halten, bis sich die Sputumschicht oben leicht zu trüben beginnt. Das Verreiben erfolgt dann wie gewöhnlich und gelingt jetzt meist sehr leicht. Ehrlich, Charité-Ann. XI 1886 p. 136, empfiehlt zu gleichem Zwecke, die Deckgläser auf die von ihm angegebene Hitzplatte in eine unterhalb 100° gelegene Zone zu bringen, bis eine geringe, auf leichte Koagulation hindeutende Trübung entsteht. Die Hitzplatte (cf. Ehrlich, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. I p. 356) stellt man sich aus einem 4—5 cm breiten ziemlich dicken Kupfer- oder Messingblechstreifen her, welcher durch eine an einem Ende untergestellte Flamme erwärmt wird. Gut ist es, wenn die Deckgläser nicht direkt auf den Streifen gelegt werden, sondern auf je drei kleinen Spitzen ruhen, welche durch das von der Rückseite erfolgte Durchschlagen eines Nagels aus der Ebene des Bleches emporgetrieben sind (**Stroschein**, Mitt. a. Dr. Brehmers Heilanstalt I p. 288).

Kühne (Cbl. f. Bakt. 1890 VIII Nr. 10 p. 297) empfiehlt zur Erzielung einer besseren Ausbreitung auf die noch feuchte Sputumschicht nach der gröberen Verteilung mittels eines kleinen Handgebläses (Doppelballon, dessen Ausführungsschlauch mit einem zu einer feinen Spitze ausgezogenen Glasrohr armiert ist) einen senkrechten Luftstrom zu richten. Man treibt dadurch das aufgetragene Sputum auf dem Deckglas hin und her und ebnet mit einem scharfen Luftstrahl zuguterletzt noch etwaige vorhandene Erhöhungen.

Die kunstgerecht ausgebreitete Sputumschicht mufs nun an das Deckglas fixiert werden, damit sie bei den späteren Operationen nicht aufquillt und sich mehr oder weniger vollständig loslöst. Dazu Trocknen.

mufs das Präparat zunächst lufttrocken werden, ehe man zur weiteren Behandlung schreiten kann. Bei einigen Sputen erfolgt das Trocknen sehr schnell, bei anderen sehr langsam. Zum Teil hängt die Zeitdauer dabei natürlich von der Dicke der aufgetragenen Schicht ab. Man läfst die Präparate entweder von selbst (vor Staub geschützt) auf reiner Unterlage an der Luft trocknen, oder beschleunigt den Prozefs, indem man mittels des Kühneschen Handgebläses einen Luftstrom auf das Präparat richtet. Man kann auch die Präparate hoch über der Flamme trocknen. Man fasse dazu das Deckglas am besten zwischen 2 Finger. Die menschliche Haut ist ein vorzüglicher Thermometer hierfür. Eine Hitze, welche man an den Fingern gut verträgt, schadet auch den Präparaten nichts. Durch zu hohe Hitzegrade wird auch die Tuberkelbacillenfärbung beeinträchtigt. Man erhält dabei auch leicht verbrannte Stellen.

Fixieren. Nachdem die Präparate lufttrocken geworden sind, wird die Sputumschicht durch Erhitzen an die Deckglasoberfläche fixiert. Es ist durchaus notwendig, dafs das Präparat vorher **vollkommen** lufttrocken geworden sei, weil man sonst die Präparatenschicht kocht (wobei Deformationen und farbstoffenthaltende Kunstprodukte entstehen), anstatt sie zu fixieren. Durch den Prozefs des Fixierens wird die angetrocknete Eiweifsschicht ohne wesentliche Strukturveränderung in eine unlösliche Modifikation übergeführt, so dafs sie nicht mehr durch Aufquellen sich ablöst und auch die störenden Farbstoffniederschläge vermieden werden: das Eiweifs wird dabei „homogenisiert“. Ehrlich (cf. Ztschr. f. klin. Medic. Bd. I pag. 556), der zuerst die Fixation überhaupt einführte (Verhandlungen d. physiol. Gesellsch. zu Berlin 1878/79 Nr. 20), empfahl dazu das Präparat 1 bis mehrere Stunden auf 100—110—120—130 ° C zu erhalten. Er gab seine Methode für die Tuberkelbacillenfärbung aber auf zu Gunsten der im Reichsgesundheitsamt erfundenen und eingeführten Methode.

Koch (Mitt. d. K. Ges. II p. 7) erwähnt zunächst, dafs das Fixieren durch Erhitzen im Trockenschrank bei 110 ° (und zwar in 40 Min.) oder bei 120—130 ° in 5—10 Min. (Koch, Mitt. a. d. Kais. Ges. I p. 5) geschehen könne, und beschreibt dann das noch jetzt übliche Verfahren. Das mit der Pinzette gefafste Deckgläschen wird „nicht zu schnell“, die beschickte Seite nach oben, mehreremale durch die nichtrufsende Flamme einer Spirituslampe oder eines Bunsenbrenners gezogen. Am zweckmäfsigsten hat sich ein dreimaliges Durchziehen bewährt. Es kommt dabei alles darauf an, dafs das Durchziehen im richtigen Tempo und vor allem in stetig gleichmäfsiger Bewegung erfolgt. War die Fixierung zu kurz, so löst sich die ungenügend fixierte Sputumschicht bei weiteren Manipulationen nachher teilweise wieder los. War die Erhitzung zu stark, so verlieren die Bakterien an ihrer Fähigkeit Farbstoffe aufzunehmen proportional dem Grade der Erhitzung und erleiden oft Deformationen. Ist die Bewegung nicht stetig, und hält man gar in der Flamme still, so läuft man Gefahr, sogar verbrannte Stellen zu bekommen.

Um einen gewissen Anhaltspunkt für das einzuhaltende Tempo zu geben, hat man verschiedene Vorschriften gegeben. Man soll das Deckgläschen so schnell durch die Flamme ziehen, „wie man Brot schneidet“ (Rindfleisch, cit. Berl. Kl. W. 1883 Nr. 12 p. 183), oder mit derselben Schnelligkeit, „mit der man z. B. zur Begrüfsung ein Tuch zu schwingen pflegt“ (Fränkel, Grundrifs der Bakterienkunde,

3. Aufl. 1890 p. 72). Eine ganz zweckmäfsige Angabe rührt von Johne (Über die Koch'schen Reinkulturen und die Cholerabacillen. Leipzig 1885 p. 19, cit. nach Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie) her. Man beschreibe danach mit der Hand einen Kreis von 1 Fufs Durchmesser, der in je einer Sekunde zurückgelegt werden soll. Bedient man sich statt eines Bunsenbrenners einer Spirituslampe, so ist die Bewegung immer etwas langsamer auszuführen, weil die Spirituslampe weniger Hitze entwickelt.[1])

Ein gut fixiertes Deckglaspräparat soll eine stellenweis kaum sichtbare, recht gleichmäfsige matte grauliche Oberfläche auf der Schichtseite aufweisen. Verbrannte Stellen markieren sich als weifsliche kreidige oder gar bräunliche Flecken.

KAPITEL III.

Die Färbung des Präparates auf Tuberkelbacillen.

Färbt man ein tuberkelbacillenhaltiges Deckglas-Trockenpräparat, z. B. von tuberkulösem Sputum, mit geeigneten Farbstoffen stark an und setzt es nach der Färbung entfärbenden Reagentien, selbst starken Mineralsäuren genügend lange Zeit aus, so entfärbt sich das ganze Präparat, Gewebe wie fremde Mikrobien: nur allein die Tuberkelbacillen bleiben[2]) in der „primären" Farbe deutlich gefärbt. Durch diese spezifische Resistenz, welche die Tuberkelbacillen der Entfärbung, sogar starken Mineralsäuren gegenüber bekunden, lassen sie sich von den meisten anderen Mikrobien unschwer unterscheiden. (Ein genau gleiches tinctorielles Verhalten zeigen nur noch die Leprabacillen und die, als vielleicht neue Species aufgestellten, Bacillen der Hühnertuberkulose.) Meist pflegt man der Entfärbung noch eine Nachfärbung folgen zu lassen, durch welche der Grund des Präparats in einer anderen, möglichst kontrastierenden Farbe erscheint.

Der Übersichtlichkeit wegen werde ich, dem Vorgange von Ehrlich folgend, Färbung, Entfärbung und Nachfärbung getrennt besprechen und darauf einige resümierende Bemerkungen und einzelne Abweichungen folgen lassen.

A. Färbung.

Die Tuberkelbacillen sind in den meisten basischen Anilinfarben (mehr oder weniger gut) färbbar.

Der Ausdruck „basisch" ist, ebenso wie der Ausdruck „sauer" bei den „sauren" Anilinfarben nicht im gewöhnlichen Sinne zu verstehen. Ehrlich fafste unter dem Namen „basische" Anilinfarbstoffe eine Gruppe von

[1]) In neuester Zeit habe ich im Berliner Hygienischen Institut öfters eine Methode des Fixierens in Anwendung gesehen, welche darin besteht, dafs man nicht mit dem Deckglas durch die Flamme fährt, sondern dasselbe in ca. 3 Sekunden 3 mal innerhalb der hochgeschraubten Flamme auf und nieder bewegt.

[2]) Ev. nach Abspülung im Wasser.

Körpern zusammen, „welche wie das essigsaure Rosanilin durch den Zusammentritt einer Farbbase (Rosanilin) mit einer indifferenten Säure (Essigsäure) entstanden sind. Die andere Gruppe, die der sauren Farbstoffe, enthält Verbindungen, in welchen, wie im pikrinsauren Ammon, eine Säure das färbende Prinzip darstellt". (Ehrlich, Zeitschr. f. klin. Mediz. Bd. I. 1880 p. 556.

Koch (Berl. Klin. Wschr. 1882, Nr. 15, p. 221) lehrte zuerst die Tuberkelbacillen mit Methylenblau darzustellen, bemerkte aber zugleich, dafs sie sich auch mit vielen anderen Anilinfarben färben liefsen. Ehrlich (D. Med. Wschr. 1882, Nr. 19, p. 271) führte das Fuchsin und Methylviolett zu ihrer Färbung ein. Viel benutzt wird ferner das Gentianaviolett und Krystallviolett (Kühne, Hermann). Die anderen Farbstoffe, mit denen auch eine mehr oder weniger intensive Färbung der Tuberkelbacillen gelingt, haben eigentlich nur ein theoretisches Interesse. Zu nennen wären z. B. Saffranin, Magdalarot, Methylgrün, Malachitgrün, Cyanin etc. Auch mit Vesuvin gelang es (zuerst Ehrlich), die Tuberkelbacillen, wenn auch nicht sehr gut, braun darzustellen. Von sauren Farbstoffen würde meines Wissens nur das Eosin [1]) (von Babes) als Tuberkelbacillen färbend angegeben (seine Angabe wurde jedoch von Baumgarten bestritten) (Charité-Ann. 1886, Bd. XI p. 128), sowie das Hexanitrodiphenylanilin von Ehrlich. Auch mit gewissen Lösungen von Hämatoxylin (z. B. Delafield's) gelingt es, Tuberkelbacillen zu färben (cf. Ernst, Ztschr. f. Hygiene V p. 428 und Metschnikoff, Virchow's Archiv Bd. 113. —

Schwierige Färbung. — Differenzen unter den einzelnen Farbstoffen.

Gleich Koch fand, dafs die Tuberkelbacillen Farbstoffe nur schwierig annehmen. Hieraus erklären sich unschwer die früheren vielfach mifslungenen Versuche den Erreger der Tuberkulose nachzuweisen. Es ist nun aber gar nicht gleichgültig, welchen Farbstoff man zur Färbung der Tuberkelbacillen wählt, da die einzelnen Farbstoffe untereinander bedeutende Differenzen hinsichtlich ihrer Affinität zu den Tuberkelbacillen besitzen. Unter sonst gleichen Bedingungen geben die einen Farbstoffe immer bessere Färbungsresultate als die anderen. Die gröfste Affinität zum Tuberkelbacillus bekundet das Fuchsin und einige violette Farbstoffe: Methylviolett, Krystall- und Gentianaviolett, Methylenblau besitzt an und für sich ziemlich geringe Affinität.

Unterschiede in den Farblösungen.

Aber auch die einzelnen Farbstoffe zeigen je nach der Art der Lösung erhebliche Differenzen in ihrer Wirkung hinsichtlich des Ausfalls der Intensität der Bacillenfärbung.

Erst allmälig, durch die Untersuchungen von Lichtheim (Fortschr. d. Med. 1883 Nr. 1), de Giacomi (ibid. Nr. 5), Prior (Berl. Klin. Wschr. 1883 Nr. 33 p. 497), Petri (ibid 1883 Nr. 48 p. 739), Weigert (D. Med. Wschr. 1883 p. 351), Baumgarten (Ztschr. f. Mikrosk. I, p. 51) wurde es absolut sicher gestellt, dafs sich Tuberkelbacillen auch

Einfache Lösungen.

[1]) Eosin färbt in saurer Lösung nach Wesener (Cbl. f. Bakt. 1887 I p. 450) sowohl Tuberkel- als auch Leprabacillen.

in einfachen konzentrierten wässrigen Lösungen von Anilinfarbstoffen unter gewissen Umständen, wenn auch schwer, anfangs erst nach $^1/_2$—1 Stunde. und auch nicht alle Exemplare färben lassen. Schon etwas bessere Resultate erhält man, wenn man wässrig alkoholische Lösungen[1]) (Baumgarten, Ztschr. f. Mikr. I 884 Bd. I) anwendet. oder konz. Lösungen in starkem Alkohol.[2])

Durch gewisse Zusätze kann man aber die Tinktionskraft der Lösungen noch bedeutend steigern. Koch (Berl. Klin. Wschr. 1882 Nr. 15 p. 222) fand zuerst, dafs bei Zusatz von Alkali (Kalilauge, Natronlauge, Ammoniak (später von Weigert für Gentianaviolett besonders empfohlen), Ammonium carbonicum (Kühne, Praktische Anleitung zum Nachweis der Bakterien am tierischen Gewebe, Leipzig 1888) die Tuberkelbacillen sich vor allem mit Methylenblau, aber auch mit anderen Farbstoffen, wenn auch nicht gleich schön, gut darstellen lassen. Von der Idee, dafs die Färbeflüssigkeit alkalisch sein müfste, ausgehend, suchte Ehrlich (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 269) die von Koch benutzte Kalilauge durch ein anderes Alkali zu ersetzen und führte das Anilin in die Tuberkelbacillenfärbetechnik ein. Durch die Untersuchungen von Ziehl (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 33 p. 451) und B. Fraenkel (Berl. Klin. Wschr. 1884 Nr. 3 p. 194) wurde jedoch bald klar gelegt, dafs die vorzügliche Wirkung des Anilins unmöglich nur auf der Alkalescenz beruhen könne. Ziehl (l. c.) vermutete, dafs das die Färbung begünstigende Prinzip ein im Anilinöl enthaltenes, vielleicht zur aromatischen Reihe gehöriger Körper sein dürfte. Er versuchte die Carbolsäure, welche sich ihm hinsichtlich der Reaktion ähnlich wie das Anilin gezeigt hatte. Der Versuch gelang, ebenso mit dem der Carbolsäure nahestehenden Resorcin und der Pyrogallussäure. Prior (Berl. Klin. Wschr. 1883 Nr. 33 p. 498) empfahl dann das Terpentin, B. Fraenkel (Berl. Klin. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 194) das Orthotoluidin, Brieger (D. Med. Wschr. 1885 Nr. 47 p. 810) das Thymol. Ehrlich (Charité-Annalen 1886 Bd. XI p. 125) suchte systematisch die dem Anilin

Steigerung der Tinktionskraft der Lösungen durch Zusätze.

---

[1]) Wesener (Cbl. f. Bakt. 1887 I p. 452) bemerkt dagegen: „Die tinktorielle Kraft der konzentrierten wässerigen Lösung ist anscheinend etwas gröfser als die der verdünnten alkoholischen.“ Wir stellen uns nach Fränkel (Grundrifs der Bakterienkunde 1890 p. 61—62, p. 38) zunächst „gesättigte“ alkoholische Lösungen der Anilinfarben in der Weise her, dafs wir in eine Flasche mit Alkohol so viel von dem trockenen Farbstoff einschütten, als sich überhaupt darin löst. Besser ist es noch, sogar im Überschufs zuzusetzen, gut umzuschütteln, nach einigen Tagen zu filtrieren und die gewonnene konzentrische Lösung zu gebrauchen.“ Hierbei oft dicker Bodensatz von „Coupage“ (Dextrin, Soda etc.) womit der Farbstoff für den Handel „gestellt“ war. Aus diesem konz. alkoholischen „Stammflüssigkeiten“ erhalten wir die verdünnten Lösungen, wenn wir „ein etwa 10 cm hohes Glasfläschchen, das im durchbohrten Korkstopfen eine Pipette oder einen Tropfenzähler trägt, zu drei Vierteilen mit destilliertem Wasser füllen und dann von der gesättigten Lösung langsam so viel zugeben, dafs die Flüssigkeit in der Dicke des Flaschenhalses noch eben durchsichtig bleibt.“ Filtrieren oder nach Abstehen mit Pipette aus der Mitte der Flüssigkeit abheben oder stets frisch bereiten: „in ein Schälchen mit destilliertem Wasser einige Tropfen von der konzentrierten Lösung einfallen lassen, bis die Flüssigkeit anfängt ihre Durchsichtigkeit zu verlieren.“

[2]) Nach Günther (Einführung in das Studium der Bakteriologie. Leipzig 1890. p. 71—74) färben Lösungen von Anilinfarbstoffen in absolutem Alkohol gar nicht. Doch genügt längeres Stehen an der Luft, Abspülen in Wasser oder wasserhaltigen Flüssigkeiten, oder der geringe Wassergehalt, den der gewöhnlich gebrauchte starke Alkohol besitzt um Färbung hervorzurufen.

nahestehenden Körper zu erforschen, welche vielleicht geeignet wären, dasselbe zu ersetzen. Er fand, dafs die Homologe des Anilins z. B. Paratoluidin, Metatoluidin etc. sich wie erwartet genau so verhielten, wie Anilin. Er constatirte ferner, dafs bei Substitutionsprodukten des Anilins mit der Abnahme der Basicität auch eine Verringerung der tinktionsbefördernden Eigenschaften einhergehe. So konnten mit Monomethyl- und Dimethylanilin, Monoäthylanilin, Diphenylanilin und Acetanilin, Paranitranilin die Tuberkelbacillen gar nicht oder nur mangelhaft zur Darstellung gebracht werden. Anderseits erzielte er mit stärker alkalischen Verbindungen, wie Toluylendiamin und Dimethylparaphenylendiamin auch nicht annähernd dieselben brillanten Bilder, wie mit dem ursprünglich verwendeten Anilin. Verbindungen, in denen die Ammoniakgruppe durch andere Gruppen ersetzt war, wie z. B. das Phenol ergaben die gleichen guten Resultate, wie das Anilin. Ganz unbefriedigend fielen dagegen Versuche mit Salicylsäure und Benzoësäure sowie deren Salzen aus, während die Aldehyde, wie Benzaldehyd, Salicylaldehyd und Vanillin sich als sehr geeignet erwiesen. De Souza (refer. D. Medztg. 1889 Nr. 61 p. 705) empfahl das Pyridin.

Erklärung der Wirkungsweise dieser Zusätze.

Was die Bedeutung des Zusatzes des Anilin und ähnlich wirkender Stoffe betrifft, so hatte Ehrlich (D. med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270) das Anilin als Base zum Ersatz für die Kalilauge des Koch'schen Verfahrens in die Technik eingeführt, weil er glaubte, dafs zum Zustandekommen der Tuberkelbacillenfärbung eine alkalische Reaktion der Farbflüssigkeit notwendig sei. Dafs dies durchaus nicht der Fall ist, wurde von Ziehl (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 33 p. 451) einwandsfrei bewiesen und später auch von Ehrlich (Charité-Annalen XI 1886) anerkannt. Ziehl (l. c.) zeigte, dafs sich die Tuberkelbacillen auch mit angesäuerten Lösungen zur Anschauung bringen lassen und Petri (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739) gelang es, sie in einer Lösung von Fuchsin in Eisessig zu färben; Lubimoff (Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 543) empfahl zu ihrer Färbung das Borfuchsin; Rindfleisch (Sitzungsberichte der physik.-med. Gesellschaft zu Würzburg 1882 Nr. 8) vermochte sie sogar in mit Salpetersäure versetzten Lösungen darzustellen. Die alkalische Reaktion war also jedenfalls nicht notwendig. Übrigens besitzt das Anilin und ebenso die Karbolsäure eine fast neutrale, nur mit den empfindlichsten Reagenzpapieren (Dahlien) als alkalisch erkennbare Reaktion (Ziehl l. c.). Der Grund für die eigentümliche Wirkung dieser Stoffe mufs also wohl in etwas anderem zu suchen sein.

Ein Punkt scheint dabei ganz beachtenswert. Das ist die von Gottstein (D. Med. Wschr. 1886 Nr. 42 p. 738) später ermittelte Thatsache, dafs alle diese Substanzen die Lösbarkeit der Farben erhöhen, und also gestatten konzentriertere und daher entsprechend stärker färbende Lösungen in Anwendung zu ziehen. Allein auch hierdurch scheint die eigentümliche Wirkung dieser Substanzen noch immer nicht genügend aufgeklärt. Ehrlich (l. c.) machte dagegen auf die Analogieen, welche die Färbung mit Anilinfarben bei Anilinzusatz mit dem Türkischrotprozess bietet, aufmerksam. Die Anwendung des Anilins und seiner Surrogate wäre nach Ehrlich als eine Art Beize aufzufassen. Diese Anschauung hat sich mehr und mehr Bahn gebrochen. Ehrlich machte aber gleichzeitig darauf aufmerksam, dafs das Anilin etc. nicht mit allen Farbstoffen gleich gute Resultate gibt.

So erhält man mit Methylenblau oder Saffranin trotz Zusatz von Anilin etc. zu den Farblösungen doch stets nur dünne schlechtgefärbte Tuberkelbacillen, während Fuchsin und die Violette bei gleicher Behandlung die Bacillen sehr viel dicker und kräftiger zur Anschauung bringen. Durch die letzteren Farben mufs also unter Mitwirkung der genannten Zusätze ein etwas, eine äufsere Schicht (cf. den Abschnitt über Tuberkelbacillen) mehr gefärbt werden, als durch die ersteren Farben. Unna (Die Entwicklung der Bakterienfärbung, Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III Sep.-Abdr. p. 22) hat dies direkt auf eine spezifisch färbbare „Hülle" der Tuberkelbacillen bezogen, welche also mit Fuchsin oder den Violetten, nicht aber mit Methylenblau oder Saffranin bei Zusatz von Anilin etc. „echt" angefärbt wird, also zu der Verbindung dieser Farbstoffe mit Anilin etc. eine spezifische Affinität dokumentiert. Ehrlich [1]) fand, dafs nur diejenigen Farbstoffe die Tuberkelbacillen gut zu färben vermochten, deren wässerige oder alkoholische Lösungen mit Anilinwasser eine Trübung („Schwebefällung", Unna) geben, während alle die Farbstoffe, deren Lösungen mit Anilinwasser klar blieben, Tuberkelbacillen nur schlecht oder gar nicht färbten. [2])

Was nun die Zusätze von Alkalien wie Kalilauge, Natronlauge, Ammoniak, Ammonium carbonicum, zu den Farblösungen betrifft, so dürften zur Erklärung ihrer Wirkung ähnliche Momente in Frage kommen. Erstens gestatten sie, die Konzentration der Farblösungen hinsichtlich ihres Gehalts an Farbstoff zu steigern. Aber nur zum kleineren Teile dürfte ihre Wirkung für die Alkalisierung der Farbflüssigkeit in Frage kommen, vielmehr dürften sie mit den Farbstoffen Doppelverbindungen (Farbenwechsel) bilden, welche dann weitere Verbindungen mit den Bestandteilen des Präparates eingehen.

Doch ist die Reaktion der Farbflüssigkeit auch nicht gleichgültig. Die Tuberkelbacillen bedürfen zu ihrer Färbung einer neutralen oder schwach alkalischen Reaktion der Farbflüssigkeit. Ein Übermafs von Säure sowohl wie von Alkali beeinträchtigt die Schönheit der Färbung. Zufällig scheint die Reaktion der verwendeten Farbflüssigkeit (Anilinwasser, Karbol, Fuchsin etc.) optimal oder doch fast optimal empirisch getroffen zu sein. [3]) Reaktion der Farbflüssigkeit.

[1]) Der Unterschied zwischen der von Ehrlich und der von Unna angenommenen Hülle besteht darin, dafs Ehrlich für die Tuberkelbacillen eine „Hülle" mit spezifischen Eigenschaften postulierte, welche für Farbstoffe nur unter dem Einflufs von Alkalien durchgängig, für Mineralsäuren aber absolut undurchgängig sein sollte, während Unna annimmt, dafs diese äufsere Hülle, eine Rindenschicht, eben selbst mitgefärbt wird.

[2]) Wie bekannt, sind die Lösungen von Anilinfarben in Wasser nur wenig haltbar und verfärben sich oft sehr schnell in relativ kurzer Zeit. Diese Entfärbung beruht aber nicht etwa nur auf dem Umstande, dafs das Anilin mit dem Farbstoff wieder ausfällt, sondern es finden dabei tiefgreifende Zersetzungen statt. Das Anilinöl ist ein vortreffliches Lösungsmittel für Anilinfarben. Seine wässerige Lösung zersetzt sich aber besonders bei Zutritt von Luft und Licht ziemlich rasch, wobei sich ölige Tropfen abscheiden, während die Flüssigkeit ihren spezifischen Geruch verliert und statt dessen einen mehr stechenden Geruch annimmt. (Es findet dabei eine Art Verharzung statt.) Auch die meisten Lösungen von Anilinfarben zersetzen sich mehr oder weniger schnell. Die Lösungen von Anilinfarben in Anilinwasser sind aber meist noch empfindlicher in dieser Hinsicht, vor allem wenn sie ad maximum gesättigt waren, was durch die auftretende Opalescenz angezeigt wird. Diese verschwindet bei Zusatz von Alkohol, welcher die Lösungsfähigkeit der Flüssigkeit für Anilin und Anilinfarben wieder steigert. Diese Lösungen mit Alkoholzusatz sind bedeutend haltbarer.

[3]) Jüngst hat Löffler (Cbl. f. Bakteriol. 1890 Bd. VII Nr. 20 p. 628 f.) die

Alle Farbstofflösungen, welche die Tuberkelbacillen zu färben vermögen, brauchen eine gewisse Zeit der Einwirkung, um eine gute Färbung zu erzielen. Es hat sich nämlich herausgestellt, dafs sich zuerst durchaus nicht alle vorhandenen Tuberkelbacillen färben, sondern immer nur einzelne Exemplare, dafs ferner bei längerer Einwirkung mehr Exemplare gefärbt werden, dafs die Färbung ferner auch in später sich färbenden Bacillen allmälig fester (echter) wird, so dafs dieselben nachher bei der Entfärbung nicht mehr so leicht wie nach kurzdauernder Färbung entfärbt werden. Die Zeitdauer der Färbung ist je nach der Lösung verschieden. Schon Koch liefs daher, um eine volle Färbung zu erzielen, die Präparate 24 Stunden in der Farblösung. Es gibt aber Farblösungen, wie z. B. das Karbolfuchsin, welche bereits in Zeit weniger Minuten alle vorhandenen Tuberkelbacillen genügend echt in der Kälte zu färben vermögen. Durch längeres Einwirken der Farbe wird aber auch diese Färbung echter.

Schwimmenlassen der Deckgläser.

Die Färbung kann auf verschiedene Art und Weise ausgeführt werden. Man fafst z. B. das Deckgläschen zwischen 2 Finger, die beschickte Seite nach unten, und läfst es mit dieser vorsichtig auf die Farblösung fallen, so dafs es auf der Oberfläche schwimmt. Man achte darauf, dafs keine Luftblasen sich dabei unter dem Deckgläschen befinden, da dann die Stelle, wo die Luftblase stand, farblos bleibt (Koch, Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II, p. 10). Sinkt das Deckgläschen unter, so ist das kein grofses Unglück.

Auftropfen der Farblösung.

Andere ziehen es dagegen vor, umgekehrt die Farblösung auf das Deckgläschen aufzutropfen und verwerfen das Schwimmenlassen der Deckgläschen, so Negri, Journal de Micrographie Huitième Année Nr. 6 p. 349: „parceque l'huile d'aniline qui n'est jamais parfaitement dissoute forme à la surface une couche grasse qui empêche la coloration d'être parfaite et intense.“


Fig. 1.

Man legt zu diesem Zwecke die beschickten Deckgläschen auf den Tisch, resp. auf Fliefspapier, oder einen kleinen Glasblock (Kühne). Peters (Die Untersuchung des Auswurfs auf Tuberkelbacillen. Leipzig 1886) rät, die Deckgläschen so an die Kante des Tisches zu legen, dafs ihr Rand ca. 2 mm übersteht, um bequem mit der Pinzette gefafst werden zu können. Negri (l. c.) legt sie in ein Uhrschälchen, welches er nachher zudeckt. Recht bequem ist die von Cornet angegebene Pinzette (siehe Fig. 1), welche das Deckgläschen mit leichtem Druck zwischen ihren federnden Branchen hält. Man kann die Pinzette dabei ruhig flach auf den Tisch legen, wobei das Deckgläschen horizontal von der Pinzette gehalten wird.

---

höchst wichtige Entdeckung gemacht, dafs die einzelnen Mikrobien zum Gelingen der Geifselfärbung eine spezifische Reaktion der Beizflüssigkeit bedürfen, welche man durch Zusatz von Alkali und Säure empirisch ausprobieren kann. Ich glaube, dafs sein Gesetz dahin zu erweitern sein dürfte, dafs die einzelnen Mikrobien nicht nur zur Darstellung der Geifseln eine spezifische Reaktion der Beizflüssigkeit, sondern auch zu ihrer Totaldarstellung eine ganz spezifische Reaktion der Farblösung beanspruchen, um optimal gefärbt zu werden. Sollte diese Vermutung sich in der Zukunft bestätigen, so dürften wir vielleicht hoffen, durch planmäfsigen tropfenweisen Zusatz von Säuren oder Alkalien zur Farblösung auch für die am schwersten färbbaren Mikrobien geeignete Farblösungen herauszuprobieren, während man bis dahin sich meist mit den einfachen wässerigen oder wässerig-alkoholischen oder den sogenannten Universalfärbeflüssigkeiten begnügte. Auch hier heifst es also individualisieren!

Man träufelt au die nach oben gekehrte beschickte Seite des Deckgläschens die Farbstofflösung vorsichtig auf, so dafs sie schwappend bis zum Rande reicht, am besten mittelst eines Tropfenzählers oder einer Pipette.

Der Modus ist eigentlich dabei mehr Geschmackssache. Dauert die Färbung nur kurze Zeit, so ist die Cornet'sche Pinzette recht praktisch. Zum Abspülen etc. mufs man jedoch das Deckgläschen mit einer anderen Pinzette als der Cornet'schen entnehmen, da diese es nicht genügend festhält, so dafs man das Deckgläschen leicht aus den Pinzettenbranchen verliert. Zum Abspülen selbst bedient man sich entweder einer Spritzflasche oder einer hochgestellten gröfseren Flasche mit Hebervorrichtung und Quetschhahn. Will man lange Zeit färben, so empfiehlt es sich, die Deckgläschen auf der Flüssigkeit schwimmen zu lassen, oder in die Flüssigkeit untergetaucht zu legen, wobei die beschickte Seite (der Farbstoffniederschläge wegen) auch am besten nach unten sieht.

Steigerung der Färbung durch Erwärmen der Farblösung. a) Koch

Koch (Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 15 p. 221) fand bereits, dafs man durch Erwärmen der Farbflüssigkeit die Färbung intensiver machen und die Färbungsdauer bedeutend abkürzen kann. Er hielt die Präparate längere Zeit in einer auf Bruttemperatur erwärmten Farbflüssigkeit. Für Schnitte kann diese Temperatur auch wohl nicht gut überschritten werden, da dieselben sonst schrumpfen. Deckglaspräparate aber vertragen ohne Schaden auch bedeutend höhere Temperaturen, bei denen die Färbungsdauer noch mehr abgekürzt wird. Die Einführung dieser hohen Temperaturen zur Abkürzung der Tuberkelbacillenfärbung verdanken wir Rindfleisch (cf. Berl. Kl. Wschr. 1883. Nr. 12 p. 183). Auch hierbei können wir entweder das Deckgläschen auf die Farbflüssigkeit oder die Farbflüssigkeit auf das Deckgläschen bringen.

b) Rindfleisch.

Im ersteren Falle erhitzt man nach Rindfleisch (ref. Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 12 p. 183) z. B. das die Farbflüssigkeit enthaltende halbgefüllte Uhrschälchen über der Flamme bis zum leichten Dampfen; die Deckgläschen schwimmen dabei auf der heifsen Farblösung. Event. kann man die Deckgläschen nach dem Erwärmen der Lösung noch 1 Minute und länger mit ihr in Kontakt lassen, um die Färbung zu verstärken. Die Pinzette, mit der man das Uhrschälchen fafst, mufs natürlich ziemlich stark gearbeitet sein. Die Uhrschälchen zerspringen sehr leicht beim Erhitzen über freier Flamme. Um dies zu vermeiden empfiehlt Günther (Einführung in das Studium der Bakt. p. 153) folgende Regeln zu beachten: „Man benutzt zum Erhitzen nur eine sehr kleine Flamme, eine Flamme, die nicht höher als etwa 2 cm ist. Benutzt man den Bunsenschen Brenner, so sperrt man die Luftzufuhr zur Flamme ab und schraubt dann die Flamme bis zur angegebenen Gröfse hinunter; benutzt man die Spirituslampe, so regulirt man die Grösse der Flamme an dem Dochte. In die kleine Flamme hinein bringt man nun das mit einer starken Pinzette am Rande erfafste Uhrschälchen so, dafs nur seine Mitte erhitzt wird. Ist das Schälchen etwa 2—3 Sekunden in der Flamme geblieben, so bewegt man dasselbe langsam in vertikaler Richtung bis etwa zur Höhe von 10 cm oberhalb der Flamme. Während dieser Zeit wird das Schälchen durch die vertikal von der Flamme aufsteigenden Heizgase erhitzt. Nun geht man sofort wieder in die Flamme hinunter, bleibt darin wieder einige Sekunden, geht wieder in die Höhe, wieder hinunter, und so fort, bis die Flüssigkeit beginnt

α) Günther.

Blasen zu entwickeln. In diesem Moment bricht man die Erhitzung ab, stellt das Schälchen auf den Tisch und läfst dasselbe eine Minute lang stehen.“ Petri (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739) erhitzte die Farblösung mit den zum Schwimmen gebrachten Deckgläsern auf der von Ehrlich empfohlenen Messingplatte, welche durch eine untergestellte Flamme auf 100—110⁰ gehalten wurde in einer flachen Porzellanschale mit aufgelegter Glasplatte, bis sich kondensierende Wassertropfen an der Innenfläche der bedeckenden Glasplatte zeigten. Ebenso kann man natürlich auch die Uhrschälchen mit Farblösung auf der Messingplatte erhitzen. Verdunstende Flüssigkeit mufs event. durch Nachfüllen ersetzt werden. Deshalb empfiehlt es sich, zumal wenn man Deckglaspräparate längere Zeit bei hoher Temperatur färben will, das Gefäfs mit der Farbflüssigkeit stets mit einer Glasscheibe oder einem Uhrschälchen etc. zuzudecken. Das leichte Springen der benutzten Gefäfse beim Erhitzen kann man auch vermeiden, wenn man dieselben nicht über freier Flamme, sondern auf einem Dreifufs oder Stativring über untergelegtem Drahtnetz oder Asbestpapier erhitzt. Für langdauerndes Erhitzen bediene ich mich eines sogenannten Mikrobrenners mit kleiner, kaum 3 mm hoher Flamme und aufgesetztem Cylinder, über dem auf mit Messinggaze armiertem Stativring das zugedeckte Gefäfs mit der Farbflüssigkeit steht.

β) Petri.

Einige ziehen es vor, die Farbflüssigkeit im Reagierglas aufzukochen, dann in ein Uhrschälchen zu giefsen und auf dieser heifsen, dampfenden Flüssigkeit die Deckgläser zum Schwimmen zu bringen.

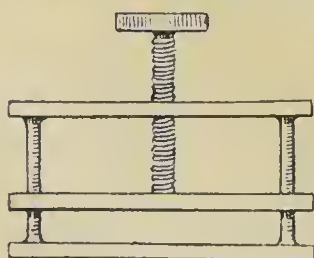
γ) B. Fränkel.

B. Fränkel (Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 194) erhitzte das Anilinwasser im Reagenzglas allein, goss es in ein Uhrschälchen und setzte erst dann von den alkoholischen Anilinfarbstofflösungen zu, weil das Anilinwasser in der Wärme mehr Farbstoff aufzunehmen vermag.

δ) auf dem Deckglas.

Schlägt man den umgekehrten Weg ein, indem man die Farbflüssigkeit auf das Präparat bringt, so kann man letzteres z. B. einfach mit der heifsen Farbflüssigkeit übergiefsen. Oder man legt das Deckglas auf die heifse Messingplatte (am besten auf 3 kleine hervorgetriebene Spitzen) und tropft die Farbflüssigkeit auf. Sehr beliebt ist das Erhitzen des mit Farbflüssigkeit schwappend bis zum Rand bedeckten Deckgläschen über freier Flamme. Man fafst dazu das Deckgläschen am besten in der Mitte einer reinen Kante mit einer Pinzette — sehr zweckmäfsig ist dazu die von Kühne (Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bakterien etc. Leipzig 1888 p. 19) empfohlene, auf die Fläche gebogene Pinzette — (Fig. 2) tropft mit einem Tropfenzähler oder Pipette die Farbstofflösung gleichmäfsig bis zum Rande auf und erhitzt das Deckglas direkt über kleiner Flamme (cf. oben Günther). Die Höhe der Flamme reguliert man sehr zweckmäfsig, indem man mit einem v. Hofmann'schen Quetschhahn (Fig. 3) den zuführenden Gasschlauch mehr oder weniger komprimiert. Man kann aber auch die mit Flüssigkeit beschickten Deckgläser in der grofsen nicht leuchtenden Flamme an der Spitze des innern Flammenkegels erhitzen. Die Deckgläser springen mitunter, zumal wenn die Flüssigkeit an den Ecken des Deckgläschens verdampft oder auf die Unterseite herabläuft. Man mufs daher für gleichmäfsige Bedeckung des Deckglases mit Flüssigkeit besondere Sorge tragen. Es eignen sich ferner


Fig. 2.


Fig. 3.

nicht alle Färbeflüssigkeiten für dieses Verfahren. Stärkere alkoholische Lösungen entzünden sich dabei und brennen an. Daher darf die benutzte Lösung nur einen geringen Alkoholgehalt besitzen. Auch so bilden sich beim Verdunsten des Alkohols mitunter störende Niederschläge. Ich habe daher neuerdings versucht, den Alkoholzusatz für diese Lösungen ganz fortzulassen und nach dem Vorgange der Franzosen durch Glycerin zu ersetzen. Ich bin mit den erhaltenen Resultaten bis jetzt zufrieden. Man erhitzt die mit Flüssigkeit bedeckten Deckgläser bis zum leichten Dampfen ev. bis zum schwachen Blasenwerfen. Einige Flüssigkeiten spritzen dabei unangenehm und beflecken dadurch die Hände. [1])

Die verschiedenen Steigerungsverfahren der Färbung bieten jedes verschiedene Vor- und Nachteile dar. Es wird also teilweise von dem Geschmack des Untersuchers, teilweise auch von der Art des angestrebten Zweckes abhängen, welches Verfahren man wählt. Die Steigerung der Färbung durch die Wärme reduziert die Zeit der Anfärbung der Tuberkelbacillen auf ein Minimum. Dieselben werden selbst durch wässerige Lösungen unter Mitwirkung der Hitze fast momentan gefärbt. Es scheint aber doch, wie oben erwähnt, immer einer gewissen Dauer der Einwirkung des Farbstoffes zu bedürfen, um die vollzogene Anfärbung auch zu einer dauerhaften, „echten" Färbung zu machen. Für gewisse schwierige Fälle wird man sogar in der Wärme kürzere oder längere Zeit anfärben, um sofort eine vollständige Anfärbung zu erzielen, und dann die Farbflüssigkeit noch in der Kälte lange weiter wirken lassen. Am schnellsten und bequemsten und auch am intensivsten wirkend erscheint mir die Färbung durch Erhitzen der Farbflüssigkeit auf dem Deckglas, das man am besten mit der Kühne'schen Pinzette gefafst hält.

Will man jede Farbstoffniederschläge, die übrigens bei der Weiterbehandlung sich meist wieder auflösen, also nicht hindern, möglichst vermeiden, so färbt man wohl besser längere Zeit in der Kälte. Dauert aber die Färbung in der Kälte lange (ca. 24—48 St.), so bilden sich auch bei diesem Verfahren, vorzüglich bei langer Anwendung, leicht zersetzlicher Farbstofflösungen Niederschläge.

In praxi kommen für die Färbung der Tuberkelbacillen in Betracht eigentlich nur noch Fuchsin und gewisse Violette. Von den letzteren war das Methylviolett von Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges. II) und Baumgarten (Ztschr. f. wissensch. Mikroskopie 1884 Bd. I) seinerzeit wegen seiner ganz besonders grofsen Affinität zu den Tuberkelbacillen empfohlen. Das Gentianaviolett wurde von Weigert (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 24 p. 350) eingeführt, was Ehrlich (Charité-Ann. 1886 Bd. XI, p. 124) als einen Rückschritt bezeichnete, da dasselbe ein unreiner, chemisch undefinierbarer Farbstoff sei. Unna (Cbl. f. Bakteriol. Bd. III, 1888, Sep.-Abdr. p. 27—28) dagegen verteidigte diese Einführung des Gentianavioletts als einen unbewufst gemachten Fortschritt, indem dadurch zum ersten Male ein „Pararosanilin.

---

[1]) Die entstandenen Flecke auf den Händen entfernt man sehr leicht, indem man sie mittels eines Wattebausches mit Mineralsäuren, z. B. Schwefelsäure (1:5) befeuchtet und mit Alkohol und dann mit Wasser abwäscht. Es empfiehlt sich nach solchen energischen Säuberungen die Haut einzufetten! Zur Entfernung gewisser Farbstoffe, wie z. B. Viktoriablau, erreicht man mit Säuren nichts; hier mufs man starke Alkalien, wie Ammoniak, Kali- oder Natronlauge mit darauffolgendem Alkohol anwenden.

welches von den meisten früher benutzten Marken des Handels nicht durch seine Unreinheit, sondern durch seine chemische Konstitution unterschieden ist“, eingeführt wurde.

Kühne (Praktische Anleitung zum Nachweis der Bakterien im tierischen Gewebe) und nach ihm Hermann (Annales de l'Institut Pasteur 1889 p. 160) empfahlen das Krystallviolett, das, weil es sehr schonend und differenziert tingiert, vielleicht auch sonst weitere Beachtung verdient. In neuerer Zeit verläfst man dagegen mehr und mehr die violetten Farbstoffe und bevorzugt dafür das Fuchsin für die Färbung der Tuberkelbacillen. Dies hat seinen guten Grund. Erstens nämlich erhalten die Tuberkelbacillen durch Fuchsin ein leuchtendes Rot, das viel brillanter ausfällt im Vergleich zu der dagegen stets etwas stumpfer erscheinenden Violettfärbung. Es erscheinen ferner die mit Fuchsin (Anilin- oder Karbol-) gefärbten Tuberkelbacillen immer etwas dicker (Balmer und Fräntzel, Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 45 p. 680) und sind daher auch leichter erkennbar als die mit Violett gefärbten. Ferner eignet sich die Färbung mit Fuchsin besser für Untersuchungen bei künstlichem Lichte (Guttmann, Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 52 p. 791; B. Fränkel. Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 4 p. 58). Die violett gefärbten Tuberkelbacillen erscheinen nämlich bei Lampenlicht leicht schwarz, sind daher schwerer als solche zu erkennen, während das Fuchsinrot dadurch eher noch leuchtender wird. Aus diesen Gründen wird daher die Auffindung einzelner Tuberkelbacillen bei Fuchsinfärbung leichter sein, als bei Violettfärbung. Auch für photographische Zwecke zieht man meistens die Fuchsinfärbung vor. Die Fuchsinfärbung ist zudem viel haltbarer als die Violettfärbung. Alle die genannten violetten Farbstoffe sind sehr empfindlich. Damit gefärbte Präparate verblassen oft sehr schnell (manche schon in Stunden). Andere freilich erweisen sich haltbarer. Doch sind ihnen, was die Haltbarkeit anbetrifft, die Fuchsinpräparate meist bedeutend überlegen (Balmer und Fräntzel, Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 45 p. 680). Auch sind nicht alle Violettmarken in ihrer Wirkung gleich, sondern Violette von verschiedenen Bezugsquellen zeigten oft sehr erhebliche Differenzen, während die Fuchsine, selbst verschiedener Firmen, sich meist von konstanter, gleichmäfsiger Wirkung erwiesen (Biedert und Sigel. Virch. Arch. 98, p. 94). Ziehl (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 17 p. 247) gibt freilich an, dafs 2 Sorten Fuchsin sich verschieden verhalten hätten; denn während mit der einen (von Grübler bezogenen) sich die Tuberkelbacillen in konz. wässeriger Lösung bereits (in der Wärme) nach $^1/_2$ Stunde färbten, erzielte er mit der anderen Sorte bei gleicher Behandlung keine Färbung.

Aus allen diesen Gründen gebe ich wenigstens dem Fuchsin unbedingt den Vorzug. Wenn man nun bedenkt, dafs mit der Anfärbung das Maximum der Färbung der Tuberkelbacillen erreicht ist, und dafs also mit jeder nachfolgenden Prozedur dieses erzielte Maximum beeinträchtigt werden mufs, so wird man naturgemäfs diese Anfärbung mit allen Hilfsmitteln so stark als möglich zu machen suchen. Man wird also, aufser dafs man den sichersten Farbstoff (Fuchsin) wählt, die Wirkung dieses Farbstoffes durch Beizen zu verstärken und die Färbung selbst durch lange Einwirkung der Farblösung [1]) oder Erwärmen derselben so intensiv wie möglich zu machen suchen.

[1]) Lichtheim, Fortschr. d. Mediz. 1883 Nr. 1 p. 7, hält langes Liegen (24 St.)

Ob man als Beize Anilin, Karbol, Terpentin oder Thymol etc. nehmen will, ist ziemlich gleich. Am beliebtesten sind Anilin und Karbol. Letzteres hat für die Praxis einige entschiedene Vorzüge. Das Karbolfuchsin ist sehr haltbar, kann also in gröfseren Mengen auf einmal dargestellt werden, ohne dafs die Lösung jedesmal filtriert zu werden braucht. Es färbt die Tuberkelbacillen zudem in viel kürzerer Zeit gut an, als das Anilinfuchsin, welches am besten jedesmal frsch bereitet wird, weil es sich bald zersetzt, und etwas längere Zeit zum Anfärben beansprucht. Für die Verstärkung der Färbung durch Erwärmen dürfte sich namentlich die Erwärmung der Farbflüssigkeit auf dem Deckglase selbst, welche mit Kühne'scher Pinzette gefasft wird, als sehr bequem empfehlen.

B. Entfärbung.

Nachdem durch die Färbung in der Tuberkelfarbe das ganze Präparat gleichmäfsig überfärbt ist, kommt es darauf an, den indifferenten Teilen des Präparates (Gewebe, fremde Mikrobien etc.) den Farbstoff wieder zu entziehen, so dafs schliefslich nur die Tuberkelbacillen gefärbt bleiben. Koch erreichte dies dadurch, dafs er das mit alkalischem Methylenblau vorgefärbte Präparat der Einwirkung einer Vesuvinlösung aussetzte, welche alle übrigen Bestandteile des Präparates braun färbte, während die Tuberkelbacillen selbst allein blau blieben („Verdrängungsmethode“ Klebs, „Differenzierung durch partielle Umfärbung“ Unna [Cbl. f. Bakteriol. Bd. III 1888 p. 94], „Färbung durch Elektion“).

Als Ehrlich (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270) durch die Einführung des Anilin die Tinktionskraft seiner Farblösungen bedeutend gesteigert hatte, versuchte er vergeblich aus mit Methylviolettanilinwasser vorgefärbten Präparaten die Differenzierung der Tuberkelbacillen nach Koch's Vorgange allein durch Einwirken einer Lösung von Vesuvin zu erreichen. Er griff daher, um eine genügende Entfärbung zu erzielen, zur Anwendung der Säuren und ging bald zu immer stärkeren, wie er selbst sagt „heroischen“ über. Er empfahl besonders die Salpetersäure (1:2). Es folgte dann getrennt eine Nachfärbung des Grundes. Damit war ein neues Prinzip für die isolierte Darstellung des Tuberkelbacillus eingeführt. Es wurden dann weiter empfohlen die Salzsäure (Orth, Berl. Klin. Wschr. 1883 Nr. 28 p. 421), Eisessig (Petri, Berl. Klin. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739), Schwefelsäure (Neelsen, Cbl. f. Med. Wissensch. 1883 Nr. 28 p. 500) etc.

a) Säureentfärbungsmethoden.

Zwischen der Wirkung der starken Mineralsäuren (Salpetersäure, Salzsäure, Schwefelsäure) einerseits, und der Wirkung schwächerer, hauptsächlich organischer Säuren (wie z. B. der Essigsäure) anderseits zeigt sich bei der Entfärbung ein grofser Unterschied. Durch erstere wechselt nämlich das Präparat in toto seine Farbe und wird statt

Starke Mineralsäuren.

Triacide Verbindungen.

in der Farblösung für nicht empfehlenswert, „weil, besonders wenn die Lösung schon längere Zeit steht, bei der Entfärbung Krystallbildungen auftreten, welche die Bacillen zum Teil verdecken können. Wenn Balmer und Fräntzel ein 24stünd. Verweilen für notwendig halten, so erklärt sich das daraus, dafs ihre Farblösung weniger konzentriert ist“ — diese färbt nach ihm dem entsprechend auch langsamer.

rot — gelb, resp. statt violett — grünlichblau oder grüngelb, während es bei Anwendung der Essigsäure den Charakter der ursprünglichen Farbe bewahrt, wenn es auch eine andere Nuance bekommt. Der erwähnte Farbenwechsel beruht darauf, dafs die monaciden Rosanilinverbindungen durch die Einwirkung der genannten starken Säuren in die triaciden (gelb resp. grünlichgelb gefärbten) übergeführt werden. Und zwar geschieht das bei genügender Einwirkung in allen Teilen des Präparates durchweg, also auch in den Tuberkelbacillen, entgegengesetzt der früheren Annahme von Ehrlich (D. Med. Wschr. 1882 p. 270), welcher glaubte, dafs die Tuberkelbacillen allein im ganzen Präparat in der ursprünglichen Farbe gefärbt blieben. Durch die direkten Versuche von Spina (Studien über Tuberkulose, Wien 1883), ganz sicher aber erst durch die überzeugende Versuchsanordnung von Ziehl (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 5 p. 63) wurde der Beweis geliefert, dafs auch die Tuberkelbacillen durch diese starken Säuren zunächst die primäre Farbe verlieren, d. h. vorläufig jetzt noch durch die triacide Verbindung gefärbt sind. Konzentrierte Essigsäure bildet dagegen keine triacide Verbindung mit dem Rosanilin, die Tuberkelbacillen bleiben daher, wenn sie vorher mit Fuchsin gefärbt waren, auch nach Behandlung mit Eisessig rot (Petri, Berl. Klin. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 732).

Organische Säuren.

Restitution der monaciden Verbindungen durch Wasser.

Bringt man nun ein mit starken Mineralsäuren behandeltes Präparat, welches also die Farbe der triaciden Verbindung des ursprünglichen Anilinfarbstoffes zeigt, in Wasser, so wird die ursprüngliche Farbe (wenn auch meist schwächer als vorher) wieder restituiert. Die triaciden Verbindungen zerfallen nämlich bei Wasserzutritt und es tritt wieder die monacide Verbindung auf (Ehrlich, D. Med. Wschr. 1883 Nr. 11 p. 159). Mit Wasser sehr stark verdünnte Mineralsäuren vermögen überhaupt nicht mehr die Bildung der triaciden Verbindungen hervorzurufen.

Richtig behandelte Präparate müssen nach der Säureentfärbung und Abspülung in Wasser fast farblos erscheinen, dürfen jedenfalls nur eine ganz leichte Nuance der ursprünglichen Farbe erkennen lassen. Bei einzelnen (besonders bei dickeren und sehr intensiv angefärbten) Präparaten begegnet es dagegen gar nicht selten, dafs sie hartnäckig, selbst bei wiederholter Säureentfärbung und Wasserabspülung einen zu dunklen Ton behalten. Daher spülte Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 8), um diese unbequemen Farbstoffreste zu entfernen, welche durch Wasserbehandlung noch unlöslicher und dunkler zu werden scheinen, die Präparate direkt nach der Säurebehandlung in schwachem ca. 70 %igen (50—60% [Hüppe, Die Methoden der Bakterienforschung, 4. Aufl. p. 109] genügt auch) Alkohol ab. Die triaciden Verbindungen sind in Alkohol nämlich äufserst leicht löslich (Hüppe l. c.) und scheinen sehr wenig Affinität zu den Bestandteilen des Präparates, d. h. ein geringes Tinktionsvermögen zu besitzen. Die Behandlung mit Alkohol gestattet also den in seiner Verbindung mit den Bestandteilen des Präparates bereits gelockerten Farbstoff in seiner triaciden Form leichter auszuziehen. Baumgarten (Pathol. Mykologie I p. 144) hebt aufserdem hervor, dafs durch die Alkoholnachbehandlung die Entfärbung in ihrer differenzierenden Wirkung (z. B. gegenüber Syphilis- und Smegmabacillen) noch zuverlässiger wird, ein Umstand, der für Sputumpräparate allerdings kaum je in Betracht kommen dürfte.

Alkohol nach Säureentfärbung.

Man hat auch vielfach gleich von vornherein die Säuren mit Alkohol gemischt. Eine Mischung von Schwefelsäure mit Alkohol ist meines Wissens überhaupt noch nicht empfohlen, dagegen mehrfach Salpetersäure- und Salzsäurealkohol. Der Zusatz von diesen starken Säuren darf aber einen gewissen Prozentsatz nicht übersteigen, weil sich sonst leicht ätherartige Verbindungen bilden (Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie p. 78), so dafs man, statt mit einer Mischung von Säure und Alkohol, mit einem undefinierbaren Gemisch arbeitet. Aus dem gleichen Grunde thut man gut, wenn der dazu zu verwendende Alkohol nicht absolut, sondern verdünnt genommen werden soll, zunächst die Säure mit dem Wasser zu mischen und dann erst den absoluten Alkohol zuzusetzen. Wenig empfehlenswert (weil leicht Äther bildend und aus später zu erwähnenden Gründen) ist der Salpetersäurealkohol. Sehr beliebt dagegen ist der von Orth (Berl. Klin. Wschr. 1883 Nr. 28 p. 421) eingeführte Salzsäurealkohol. Auf den mündlichen Vorschlag von Wyssokowicz hin habe ich mich vielfach der v. Ebner'schen Entkalkungsflüssigkeit, welche noch nicht 0,5% Salzsäure neben ebensoviel Kochsalz enthält, mit Vorteil bedient. Meist pflegt man auch auf die Entfärbung in Säurealkohol eine Abspülung in Alkohol, und nicht in Wasser, folgen zu lassen. Säurealkohol.

Was nun die Wahl der für die Entfärbung zu verwendenden Säure angeht, so will ich zunächst auf die angeführten Mineralsäuren kurz eingehen. Von vielen wurde und wird noch jetzt immer die zuerst von Ehrlich eingeführte Salpetersäure ausschliefslich angewendet. Ja man hielt und hält auch heute noch vielfach ihre Wirkung „irrtümlich für etwas Spezifisches“, „was schon deswegen nicht der Fall ist, weil auch andere Säuren ähnlich wirken“ (Koch, Mitt. Kais. Ges.-Amt p. 8). Die Salpetersäure ist aber mit nichten die beste, sondern für die Sicherstellung einer schwierigen Diagnose unter Umständen die bedenklichste von den drei erwähnten Mineralsäuren, zumal in ungeübter Hand, während ein geübter Untersucher allerdings auch mit ihr vollkommen sichere Resultate erhalten kann. Sie hat zunächst eine sehr unangenehme Eigenschaft, dafs die mit ihr entfärbten Präparate oft in äufserst kurzer Zeit, ja schon in wenig Stunden verblassen (cf. Koch, Mitt. a. d. Kais. Ges. II p. 10). Brun (Revue de la Suisse Romande 1882 Nr. VIII) schob die Schuld auf im Präparat zurückgebliebene Salpetersäurereste. Ziehl (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 5 p. 62) machte dann darauf aufmerksam, dafs man eine durchaus chemisch reine Salpetersäure zur Entfärbung des Präparates verwenden soll. Denn enthält dieselbe Untersalpetersäure resp. salpetrige Säure, so werden auch Tuberkelbacillen leicht entfärbt, man läuft also Gefahr, eine gröfsere oder geringere Anzahl derselben bei dem Entfärbungsprozefs zu verlieren. Man soll also die Salpetersäure vorher auf ihre Reinheit prüfen! Ehrlich (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 11 p. 160) machte ferner darauf aufmerksam, dafs sich auch bei Verwendung chemisch-reiner Salpetersäure aus den organischen Substanzen des Präparates salpetrige Säure bilden kann, welche dann ebenfalls Tuberkelbacillen entfärbend wirkt. Er schlug daher in einer späteren Arbeit (Charité-Annalen 1886 Bd. XI p. 136) vor, sich dagegen durch einen Zusatz von Sulfanilsäure zur Salpetersäure zu schützen. Die Verwendung der Salpetersäure hat also ihre Bedenken. — Die Salzsäure wird in wässeriger Lösung fast gar nicht Salpetersäure. Salzsäure.

angewandt. Viel weniger bedenklich erscheint mir die Verwendung von wässeriger Schwefelsäure zur Entfärbung. Will man etwa zur Entfärbung sich überhaupt einer Mineralsäure bedienen, so würde ich unter allen Umständen einer verdünnten Schwefelsäure, oder noch besser dem salzsauren Alkohol den Vorzug geben. Von den organischen Säuren ist fast nur die Essigsäure (von Petri zuerst empfohlen) in Gebrauch. Sie wirkt im Gegensatz zu den Mineralsäuren merkwürdig wenig auf die Tuberkelbacillen ein. Gut gefärbte Präparate können sehr lange Zeit (selbst bis zu 24 St.) ohne grofsen Schaden selbst in Eisessig liegen (cf. Petri l. c.). — Sehr viel kommt es auf die Konzentration der als Entfärbungsflüssigkeit zu benutzenden Säure an. Ehrlich (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270) empfahl zuerst 1 Vol. offizineller Salpetersäure zu 2 Vol. Wasser. Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 8) gibt eine mit 3—4 T. Wasser verdünnte Säure an und fügt gleichzeitig hinzu: „Vielleicht wird man in der Verdünnung noch weiter gehen können.“ Man ist in der That allmälig mit der Konzentration versuchsweise bedeutend herabgegangen und der Versuch hat sich bewährt. Durch zu starke Säuren erleidet man nämlich Verluste an gefärbten Tuberkelbacillen. Man kann sich davon direkt durch die Ziehl'sche Versuchsanordnung[1]) (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 5 p. 62, 1883 Nr. 17 p. 247) überzeugen. Zunächst bei Beginn des Versuchs sind allein die Tuberkelbacillen isoliert gefärbt; dann erhält nur noch ein Teil derselben ihre Farbe wieder und schliefslich ist das ganze Präparat entfärbt (Finkler und Eichler, Cbl. f. klin. Med. 1883 Nr. 15 p. 243). Diese Entfärbung vollzieht sich in um so kürzerer Zeit, je stärker die verwendete Säure war. Bei Erwärmung der Säure erfolgt die Entfärbung auch der Tuberkelbacillen momentan (Prior, Berl. Klin. Wschr. 1883 Nr. 33 p. 498). Es empfiehlt sich also die Anwendung der schonender wirkenden schwächeren Konzentrationen der Säuren. Sehr gut ist der salzsaure Alkohol, spez. in Form der Ebner'schen Entkalkungsflüssigkeit. Er greift die Tuberkelbacillenfärbung weniger an, während er das Präparat trotz seines geringen Säuregehalts im übrigen genügend schnell entfärbt. Um Niederschläge, die sich bei Säureentfärbung auf stark überfärbten Präparaten (z. B. nach langer Färbung) nicht selten bilden, zu beseitigen, hat Ziehl (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 5 p. 63) vorgeschlagen, das Präparat in diesen Fällen zunächst abwechselnd in Wasser und Alkohol abzuspülen, solange noch Farbstoff abgegeben wird, und danach erst der Säureentfärbung zu unterwerfen. —

Schwefelsäure. Essigsäure. Konzentration der Säuren.

Zeitdauer der Entfärbung.

Auch die Zeitdauer der Entfärbung ist wohl zu berücksichtigen. Ehrlich (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270) hatte anfangs geglaubt,

[1]) Ein Präparat mit reichem Gehalt an Tuberkelbacillen wird wie gewöhnlich gefärbt und entfärbt. Dann wird die ganze Präparatenschicht bis auf einen kleinen bacillenhaltigen Fleck abgekratzt und das Präparat, durch Deckglassplitter gestützt, in Wasser untersucht. Man läfst nun auf den zu beobachtenden kleinen Fleck einen Strom einer starken Mineralsäure einwirken, indem man auf der einen Seite Säure zusetzt uud auf der anderen Seite wieder absaugt. Einige Tuberkelbacillen verlieren dann sofort die Farbe, andere werden gelbbräunlich oder bräunlichschwarz, noch andere behalten zunächst ihre Farbe. Nach 15—20 Minuten sind aber alle entfärbt. Entfernt man dann wieder die Säure durch Aufsaugen mlt Fliefspapier und läfst einen Wasserstrom das Präparat bespülen, so werden einzelne Bacillen wieder rot, andere etwas dunkler, einzelne sind und bleiben verschwunden. Durch genügend lange Einwirkung des Säurestroms werden alle Tuberkelbacillen dauernd entfärbt.

dafs die Tuberkelbacillen ½ ja selbst 1 Stunde ohne Schaden der Einwirkung seiner starken Salpetersäure ausgesetzt werden könnten, doch empfahl er selbst bald darauf (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 11 p. 160) dieselbe nur so kurz wie möglich wirken zu lassen, um Mifserfolge zu vermeiden. Auch Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt p. 9) sagt: „Das Mifslingen der Bacillenfärbung scheint in den meisten Fällen gerade darin seinen Grund zu haben, dafs man meinte, die Präparate müfsten nach der Behandlung mit Salpetersäure ganz farblos sein, und dafs dieselben, um dies zu erreichen, teils zu wenig gefärbt, teils zu lange in der Säure gelassen wurden." Was von der Dauer der Salpetersäureentfärbung gesagt wurde, gilt natürlich mehr oder weniger auch für alle anderen Säureentfärbungen. Auch darf man nicht vergessen, dafs sich mit der entfärbenden Wirkung der benutzten Säure noch die entfärbende Wirkung der durch Elektion wirkenden Nachfärbung summiert. Je gröfser die letztere ist, um so schwächer wird also die Konzentration der zu benutzenden Säure sein dürfen und sein müssen. Das Vesuvin besitzt z. B. eine viel geringere tinktorielle Kraft als das Methylenblau. Bei Vesuvinnachfärbung nach Violettfärbung wird also eine stärkere Entfärbung möglich sein als bei der Methylenblaunachfärbung nach Fuchsinfärbung.

b) Umfärbungsmethoden.

Ich wende mich jetzt zur Betrachtung der zweiten grofsen Gruppe der Tuberkelfärbemethoden, welche auf dem Prinzip der Umfärbung und der Verdrängung des ersten Farbstoffes aus den übrigen Teilen des Präparates durch einen zweiten zumeist zur Gruppe der „sauren" Anilinfarben gehörenden Farbstoff beruhen. Bekanntlich wurde durch die ältere Koch'sche Methode, welche zu dieser Gruppe gehört, überhaupt zuerst die isolierte Darstellung der Tuberkelbacillen ermöglicht. Koch (Berl. Klin. Wschr. 1882 Nr. 15 p. 221) behandelte die mit seiner alkalischen Methylenblaulösung 24 St. lang (oder im Wasserbad kürzere Zeit) gefärbten Präparate mit einer wässerigen Lösung von Vesuvin. Dies verdrängte das alkalische Methylenblau aus allen übrigen Teilen des Präparates (zu denen es eine grofse Affinität besitzt) allmälig gänzlich, während die Tuberkelbacillen (welche es überhaupt in dieser Lösungsform nicht zu färben vermag) allein blau gefärbt blieben. Durch den glänzenden Fortschritt, welchen die Darstellung der Tuberkelbacillen mit der Einführung des Anilin in die Technik durch Ehrlich gemacht hatte, wurde diese ursprüngliche Methode von Koch, die doch Vorzügliches geleistet hatte, gewissermafsen in den Schatten gestellt, ja sie geriet teilweise so in Vergessenheit, dafs einzelne so weit gingen zu behaupten, man könne ohne Säureentfärbung überhaupt keine sichere Diagnose auf Tuberkelbacillen stellen. Ganz abgesehen davon, dafs die Resistenz gegen Entfärbung durch Säuren auch bei den einzelnen Individuen der Tuberkelbacillen oft sehr erhebliche Differenzen zeigt, ist diese Resistenz gegen Entfärbung durch Säuren überhaupt nichts Spezifisches, sie ist jedoch, allerdings unter Berücksichtigung aller Fehlerquellen, sehr geeignet, die Diagnose der Tuberkelbacillen zu erleichtern. Gottstein (D. Med. Wschr. 1886 Nr. 42 p. 737 ff.) setzte daher auch an die Stelle des Begriffs der Resistenz gegen Mineralsäuren den Begriff der erhöhten Resistenz nicht nur gegen Mineralsäuren, sondern überhaupt gegen **alle** entfärbenden Agentien, z. B. Salzlösungen. Die modifizierte Nachahmung der ersten Koch'schen Methode (ohne Verwendung von Säuren durch Verdrängung der ersten Farbe mittels

sekundärer Grundfärbung) auch nach Steigerung der Tinktionskraft der primären Farbe mittels Anilin, Karbol etc. gelang Ziehl (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 5 p. 63) für Anilinfuchsin und Methylenblaunachfärbung. Seine Methode wurde später von Weichselbaum (Wiener med. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 365 u. Cbl. f. Bakteriol. 1888 Bd. III p. 697 Anmerkung) allgemeiner empfohlen.

Ehrlich (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270) hatte etwas früher das gleiche für Anilinmethylviolett und Bismarkbraunnachfärbung versucht; sein Versuch war aber mifslungen und er war dadurch zur Anwendung der Säuren getrieben worden. Vielleicht liegt dieser Unterschied darin, dafs Methylenblau eine viel gröfsere Affinität zu der Grundsubstanz des Präparats besitzt, als das überhaupt etwas langsam färbende Bismarkbraun. Aufserdem hält der mit Anilinmethylviolett gefärbte Grund die Farbe sehr hartnäckig fest. Die Bedingungen für die Färbung mit Anilinmethylviolett und Nachfärbung mit Bismarkbraun waren also viel ungünstiger.

Von dem Gedanken ausgehend, dafs bei der üblichen Säurentfärbung viele Tuberkelbacillen nicht zur Anschauung gebracht werden dürften, und zwar 1) diejenigen, welche durch ihre tiefe Lage in dickeren Schichten des Präparates weniger intensiv gefärbt, oder 2) diejenigen, welche wegen ihrer exponierten Lage einer stärkeren Entfärbung ausgesetzt waren), versuchte auch Peters (Berl. Kl. Wschr. 1863 Nr. 24 p. 365) die Säurebehandlung ganz fortzulassen. Wenn die Säure fortgelassen wird und durch ein langsamer wirkendes und daher schonenderes Entfärbungsmittel ersetzt wird, argumentierte er, ist auch eine schwächere Vorfärbung ausreichend, man wird also jetzt auch, aus irgendwelchen Gründen, nur schwach angefärbte, Tuberkelbacillen zur Anschauung zu bringen vermögen. Die Säure ersetzte er durch den sehr langsam wirkenden Alkohol [1]) und benutzte als lichte Grundfarbe das Anilingelb. Letzteres hat er dabei unbewufst mit als Entfärbungsmittel, welches auch durch Verdrängung mittels Elektion wirkt, benutzt.

Kühne (Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bakterien im tierischen Gewebe. Leipzig 1888) empfahl dann für Schnitte als sehr schonendes Entfärbungsmittel den Fluoresceinalkohol. Um seine entfärbenden Eigenschaften zu steigern und dadurch die Entfärbung zu beschleunigen und die Nachfärbung zu erleichtern, ohne aber dabei die Tuberkelbacillenfärbung zu beeinträchtigen, habe ich (Mitt. a. Dr. Brehmer's Heilanstalt. Neue Folge 1890 p. 148 und Cbl. f. Bakteriol. VIII, 1890 Nr. 22 p. 689) dem Fluoresceinalkohol Methylenblau in Substanz zugesetzt und bin mit der so erhaltenen, von mir kurzweg als Fluoresceinmethylenblau bezeichneten Flüssigkeit bis jetzt vollkommen zufrieden. Kühne (Cbl. f. Bakt. VIII, 1890 Nr. 10 p. 296) hat dann weiter noch mit Lösungen von Pikrinsäure in Alkohol oder in Anilin oder in beiden, ferner mit einer Mischung einer kalt gesättigten Lösung von pikrinsaurem Ammoniak mit gleichen Teilen Alkohol Entfärbungsversuche angestellt und befriedigende Resultate erhalten. Überhaupt dürften vielleicht noch mehr zur Gruppe der Farbsäuren und „sauren“

---

[1]) Auch mit reinem Alkohol kann man bei schwacher Färbung und entsprechend langer Einwirkung unter Umständen die Tuberkelbacillen isoliert zur Darstellung bringen (cf. Baumgarten, Ztschr. f. Mikr. 1884 Bd. I).

Anilinfarben gehörende Farbstoffe sich zur Entfärbung von Tuberkelbacillenpräparaten eignen. Die Entfärbung mit diesen ist etwas anders aufzufassen, als die einfache Umfärbung wie bei Karbolfuchsin-methylenblau (Ziehl-Weichselbaum), da man bei ihnen dann immer doch noch eine Grundfärbung folgen lassen mufs, während diese von dem Methylenblau auch schon mitvollzogen wird.[1]) Auch durch gewisse farblose Salze kann man die Tuberkelbacillen isoliert gefärbt zur Darstellung bringen, so z. B. durch Natriumbisulfit (Ehrlich, D. Med. Wschr. 1883 Nr. 11 p. 159), ferner nach der Gram'schen und Gram-Weigert'schen Methode (bei der Gram'schen Methode erhält man die Tuberkelbacillen aber leicht gekörnt).

Wahl der Entfärbungsmethoden.

Was nun die Entscheidung betrifft, ob man zur Entfärbung eine Säure oder einen anderen Farbstoff wählen solle, so bieten beide Gruppen von Methoden gewisse Vorteile und Nachteile. Bei den Säuremethoden erfolgt die Entfärbung zumeist rascher und vollkommener (doch kann man auch bei Säureentfärbung sehr häufig Stellen begegnen, die den Farbstoff hartnäckig festhalten; es sind dies die zu dick geratenen oder verbrannte Stellen. Daher die Regel, die Sputumschicht stets so dünn und gleichmäfsig wie möglich zu verreiben und vorsichtig zu fixieren). Benutzt man Säuren zur Entfärbung, so mufs man es mit in den Kauf nehmen, dafs die Instrumente, z. B. Pincetten, mit denen man die Deckglaspräparate hält, von der Säure angegriffen werden und also diese verschlechtern, zweitens, dafs die Säuredämpfe die Luft verunreinigen, was eventuell für die Mikroskope und sonstigen feineren Metallgegenstände des Arbeitsraumes immerhin nicht gleichgültig sein kann.

Die Methoden der Entfärbung ohne Säuren sind viel schonender, dauern dafür aber auch meist viel länger. Dieser Nachteil existiert für die Fluoresceinmethylenblauentfärbung wenigstens nicht mehr. Es steht diesen Methoden aufserdem vielfach das Vorurteil entgegen, dafs man glaubt, auch andere Mikrobien blieben dabei in der ursprünglichen Tuberkelbacillenfarbe gefärbt. Bei richtiger Auswahl und Anwendung des entfärbenden Farbstoffs ist dieser Vorwurf absolut unbegründet. Bei der Fluoresceinmethylenblauentfärbung ist uns wenigstens kein in der Tuberkelfarbe gefärbte Mikrobe vorgekommen, aufser den Tuberkelbacillen selbst. In schwierigen Fällen dagegen haben die Umfärbungsmethoden mehrfach ihre Überlegenheit über die Säurentfärbungsmethoden dokumentiert, indem sie noch, wenn auch schlechtgefärbte, Tuberkelbacillen überhaupt, resp. zahlreich zur Anschauung brachten, wo bei Säurentfärbung keine resp. sehr spärliche gefunden wurden. So bemerkte noch jüngst Amann (Cbl. f. Bakt. 1891 Nr. 1 p. 3), dafs er in einer nach der Umfärbungsmethode behandelten Objektträgerhälfte zahlreiche Tuberkelbacillen, in der zweiten, mit Schwefelsäure entfärbten, dagegen keine gefunden habe.

Ich will hier die Gelegenheit ergreifen, einige praktische allgemeine Bemerkungen über die Vornahme der Entfärbung anzuschliefsen. Man darf nicht ein jedes Präparat genau gleich wie das andere behandeln wollen, sondern mufs auch hier individualisieren. Je dicker die Präparatenschicht ist, um so stärker und länger mufs das Präparat natürlich entfärbt werden, und umgekehrt. Auch die dicksten

[1]) Einige dieser Entfärbungsmittel, wie Pikrinsäure, Fluorescein scheinen zunächst nur wie schwache Säuren zu wirken.

Schichten sind entfärbbar, brauchen aber z. B. bis 10—15 Minuten der Einwirkung offizineller Salpetersäure. Dünne Schichten sind in derselben Salpetersäure längstens in 5 Minuten vollkommen entfärbt, dagegen mitunter in 1 Minute noch nicht (P. Guttmann, D. Med. Wschr. 1883 Nr. 11 p. 160). Man suche nicht, das Präparat vollkommen farblos zu machen; ein leichter zurückbleibender Hauch der primären Farbe schadet gar nichts und geht bei der Nachfärbung fort (cf. oben). Man kapriziere sich ferner nicht darauf, hartnäckig den Farbstoff festhaltende Flecke auch vollends zu entfärben, weil bei diesem Versuche notwendig die Tuberkelbacillenfärbung in den übrigen Teilen des Präparates durch diese protrahierte Behandlung geschädigt werden mufs. Sehr dünne Präparate müssen natürlich mit besonderer Vorsicht entfärbt werden. Je stärker entfärbend ein Entfärbungsmittel wirkt, ev. je konzentrierter es ist, um so schneller entfärbt es. Man hat also bei den schwächer wirkenden Entfärbungsmitteln die Beurteilung und Beaufsichtigung des Vorschreitens der Entfärbung viel mehr in der Hand und geht also sicherer. Daher ist es besser, schwächere Konzentrationen und schonender wirkende Entfärbungsmittel zu bevorzugen. Die Tuberkelbacillen sind nicht etwa nur durch Säuren, sondern auch durch Alkalien, andere Farbstoffe, Salze, Alkohol etc. bei genügend langer Einwirkung entfärbbar. Die Zeitdauer des Eintretens der Entfärbung hängt ab erstens von der Stärke der entfärbenden Kraft des benutzten Entfärbungsmittels und ist aufserdem individuell verschieden bei den verschiedenen Bacillenexemplaren. (Die Tuberkelbacillen zeigen also nicht nur anderen Bakterien gegenüber, sondern auch untereinander nur quantitative Unterschiede hinsichtlich der Resistenz gegen die Entfärbung.) Einige (vielleicht die ältesten oder aus anderen Gründen am schlechtesten angefärbten) entfärben sich sofort, während andere noch lange ihre Farbe bewahren, resp. bei Entfärbung mit starken Mineralsäuren auf Wasserzusatz wiederbekommen. Wenn Hüppe (Methoden der Bakterienforschung p. 66) sagt, der höchste Grad der Echtheit der Färbung wird durch „Säurefestigkeit" bezeichnet, so sind die Tuberkelbacillen jedenfalls nicht eigentlich säurefest gefärbt, da auch in ihnen die Farbe durch die Säure zuerst verändert und erst durch Wasserbehandlung wieder retabliert wird.

Durch Bewegen in der Entfärbungsflüssigkeit wird der Prozefs der Entfärbung beschleunigt, weil die zu entfärbende Schicht mit immer neuen Mengen von Entfärbungsflüssigkeit in Berührung kommt (Finkler und Eichler, Cbl. f. klin. Med. 1883 Nr. 15 p. 243). Ferner mufs man bei der Entfärbung auf den etwaigen gröfseren oder geringeren Gehalt des Präparates an Tuberkelbacillen gewisse Rücksicht nehmen. Je weniger Tuberkelbacillen vorhanden sind, um so schonender mufs die Entfärbung vorgenommen werden, um auch nicht einen durch die Entfärbung zu verlieren (weil gerade bei spärlichem Bacillengehalt die Bacillen oft recht schlecht gefärbt zu sein pflegen). Wo dagegen viele Tuberkelbacillen vorhanden sind, kann man mit der Entfärbung viel dreister vorgehen; auch pflegen sich die Tuberkelbacillen in solchen Fällen viel besser zu färben. Ganz stark entfärben mufs man mitunter in Fällen, in denen die Bacillen in den bekannten, oft wahrhaft leuchtend gefärbten Häufchen zusammenliegen, z. B. bei Kavernenbröckeln, um überhaupt nur eine genügend isolierte Färbung

der Tuberkelbacillen zu erzielen. Je stärker die Färbung war, um so stärker darf unter sonst gleichen Umständen auch die Entfärbung sein. Den maximalen Effekt wird man natürlich bei stärkster Färbung und vorsichtiger, schonender Entfärbung erhalten. Bei zu kurzer Anfärbung werden jedenfalls manche Tuberkelbacillen später bei der Entfärbung leicht wieder entfärbt.

Eventuell fertige man zur Orientierung 2 Präparate an, zunächst eines mit gewöhnlicher, mittelstarker Entfärbung und, wenn dieses ein negatives Resultat gibt, ein anderes mit besonders vorsichtiger Entfärbung (cf. Gottstein, Die Verwertung der Bakteriologie in der klinischen Diagnostik. Berlin 1887 p. 29—30).

Es ist empfehlenswert, sich immer ein und derselben Entfärbungsflüssigkeit, also auch gleichbleibender Konzentrationen zu bedienen (d. h. nicht etwa sich Säuren beliebig nach Gutdünken kurz vor dem Gebrauch zu mischen), um wenigstens immer mit denselben Reagentien zu operieren. — Zur Erleichterung der Beurteilung des Vorschreitens der Entfärbung schlug Rindfleisch vor, die Glasgefäfse mit der Säure auf eine weifse Unterlage zu stellen.

C. Nachfärbung.

Dem durch Säure entfärbten Tuberkelbacillenpräparate pflegt man zumeist eine Nachfärbung zu geben, durch die der Grund desselben in einer möglichst kontrastierenden Farbe erscheint. Bei der ursprünglichen Koch'schen Färbung (Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 15 p. 221) wurde diese Grundfärbung gleichzeitig mit der Entfärbung durch das Vesuvin bewirkt. Auch Ehrlich (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270) behielt für seine Anilinwassermethoden die Nachfärbung bei. Sie fehlt zuerst bei Rindfleisch (Berl. Kl. Wschr. 1883 p. 183), und man hat sie dann vielfach fortgelassen, ja für ganz überflüssig erklärt. Sehen wir uns die Gründe an, die für und gegen die Anwendung einer Nachfärbung sprechen. Ehrlich (l. c.) empfahl zunächst die Grundfärbung, weil dadurch das Einstellen bedeutend erleichtert würde. Dies ist in der That der Fall; auch ermüdet die Betrachtung eines in einer Kontrastfarbe nachgefärbten Präparates weniger, als wenn man einzelne Tuberkelbacillen auf einem grell beleuchteten farblosen Untergrunde suchen mufs. Ferner machten Finkler und Eichler (Cbl. f. kl. Medic. 1883 Nr. 15 p. 243) darauf aufmerksam, dafs durch eine Grundfärbung letzte Reste der primären Farbe aus dem Grunde und fremden Bakterien leicht verdrängt werden, während die Tuberkelbacillen sich energisch der Annahme einer zweiten Farbe widersetzen, und legten daher der Grundfärbung eine fundamentale Bedeutung bei. Gefsler (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 34 p. 498) rügte daher das Weglassen der Nachfärbung, weil dann leicht auch fremde Bakterien, welche vielleicht doch noch die Tuberkelbacillenfarbe behalten hätten, fälschlich als Tuberkelbacillen imponieren könnten. Als Vorteil der Nachfärbung hoben dann Biedert und Sigel (Virch. Archiv 98 p. 94) hervor, dafs bei geeigneter Nachfärbung auch fremde Mikrobien (aber in der Farbe des zur Nachfärbung gewählten Farbstoffes) zur Anschauung gebracht werden können.

Dagegen hat man den Nachfärbungsmethoden vorgeworfen, dafs durch sie der Grund zu dunkel gefärbt werde, wodurch das Auffinden

einzelner Tuberkelbacillen erschwert werde, ja einige vollkommen durch zu dunkel gefärbte Grundsubstanz verdeckt und so der Beobachtung entzogen werden.

Ferner hat man behauptet, dafs bei der Nachfärbung auch Tuberkelbacillen entfärbt und in der Gegenfarbe nachgefärbt werden, also auch aus diesem Grunde verloren gehen. (Ziehl D. Med. Wschr. 1883 Nr. 5 p. 63; Kühne, Cbl. f. Bakt. 1890 Nr. 10 p. 294.) Die Berechtigung dieser Vorwürfe gebe ich für gewisse bedingte Fälle ohne weiteres zu; man kann sich aber gegen diese Fehlerquellen durch Beobachtung gewisser Momente absolut sicher schützen. Im allgemeinen glaube ich, wird man jedenfalls gut thun, durchaus an der Nachfärbung festzuhalten und sie nur in ganz seltenen Fällen fortzulassen. Auch Ehrlich (Charité-Annal. 1886 XI p. 134) riet, sie nur bei ganz schwierigen Objekten, wie „hämorrhagischen, nur in dichten Schichten gewinnbaren Sputen, Parenchymfetzen", weil hier die Präparate an sich schon sehr dunkel sind, nicht in Anwendung zu ziehen. Auch Ziehl (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 5) empfahl bei spärlichem Gehalt des Präparates an Tuberkelbacillen, die Nachfärbung wegzulassen und in Wasser oder Glycerin zu untersuchen. Ich für meinen Teil mufs gestehen, dafs ich mich noch nie gezwungen gesehen habe, die Nachfärbung fortzulassen (mit Ausnahme von Präparaten von Tuberkelbacillen-Reinkulturen, wo sie überflüssig ist), halte dagegen die Untersuchung ohne Nachfärbung nur bei sehr geübten Untersuchern für unbedenklich.

Was nun die Wahl des zur Nachfärbung zu benutzenden Farbstoffes betrifft, so meine ich, mufs man einen solchen wählen und in einer Form zur Anwendung bringen, dafs durch die Nachfärbung alle erwähnten Vorteile unter gleichzeitiger Vermeidung der gerügten Nachteile damit erreicht werden. Der Farbstoff mufs also 1) eine zu der Tuberkelbacillenfärbung möglichst kontrastierende Farbe sein; 2) mufs er zu dem Grunde des Präparates eine möglichst grofse Affinität besitzen, um Reste der ersten Farbe schnell und sicher auch aus den Kernen und fremden Mikrobien zu verdrängen. Gut ist es, wenn er 3) auch die fremden Mikrobien in seinem Farbton gefärbt zur Anschauung bringt. Der Grund darf aber durch ihn auch nicht zu dunkel gefärbt werden. Er mufs also möglichst licht sein und darf der Farbstoff daher auch nicht zu lange wirken. Er darf ferner nicht die Tuberkelbacillen selbst umfärben. Es ist daher gut, wenn man einen Farbstoff wählt, welcher überhaupt nicht Tuberkelbacillen zu färben vermag, und auch diesen nur kurze Zeit einwirken zu lassen.

Als Farbstoffe zur Nachfärbung werden empfohlen für blaue und violette Tuberkelbacillen Bismarkbraun (Koch und Ehrlich), Karmin resp. Pikrokarmin (Orth), Chrysoidin (Gibbes), Saffranin, Eosin; für mit Fuchsinrot gefärbte Tuberkelbacillen Methylenblau (Ehrlich), Malachitgrün, Hämatoxylin, Auramin (Kühne), Pikrinsäure (Kühne) etc. Im allgemeinen war das Bestreben, den Grund für rote Tuberkelbacillen blau oder violett resp. blaugrün oder neuerdings lichtgelb, für violette Bacillen braun resp. rötlich oder gelb zu färben.

Nur mit Karmin, Hämatoxylin und den basischen Anilin-Farbstoffen erhält man eine deutliche Tinktion der Kerne und ev. auch fremder Mikrobien, während diese in sauren Anilinfarbstoffen ungefärbt bleiben. Da ich auf ihren Nachweis ganz besonderen Wert

lege, so halte ich meinerseits daher die sauren Anilinfarbstoffe, wie Pikrinsäure, Eosin, für unzweckmäfsig zur Nachfärbung. Wendet man sie an, so mufs man, um sich über den Reichtum des Präparates an zelligen Elementen und fremden Mikrobien zu orientieren, andere Präparate nach anderen Methoden besonders anfertigen. Karmin und Hämotoxylin eignen sich (bei gewissen Vorsichtsmafsregeln) ganz gut für Schnittpräparate, weniger für Deckglaspräparate, auch färben sie zu langsam und leicht zu intensiv, ganz abgesehen davon, dafs es jedenfalls bessere Kontrastfarben gibt.

Für violette Farbstoffe ist am beliebtesten Vesuvinnachfärbung. Die Bacillen erscheinen dabei aber mitunter durch Summation der Färbungen schwarz statt rein violett, speziell auch bei künstlichem Licht. Für Fuchsinfärbung, deren Vorzüge ich bei Gelegenheit der Färbung näher beleuchtet habe, ist besonders Methylenblau und Malachitgrün empfohlen. Einige Sorten des letzteren geben dem Präparate einen sehr hübsch kontrastierenden himmelblauen Ton (Biedert und Sigel. Virchow's Arch. 98 p. 94), färben aber den Grund doch nur etwas verschwommen, speziell auch fremde Mikrobien nicht sehr deutlich. Sehr bedenklich erscheint aber die Anwendung des Malachitgrüns aus dem Grunde, dafs es die Fähigkeit besitzt, Tuberkelbacillen ziemlich leicht selbst anzufärben, weshalb Ehrlich (Charité-Ann. XI, 1886 p. 135) davor ausdrücklich warnt und rät, es nur mit Essigsäurezusatz zu verwenden.

Die klassische Farbe zur Nachfärbung für mit Fuchsin gefärbte Tuberkelbacillen ist das Methylenblau. Nun ist es aber gar nicht gleichgültig, in welcher Lösung man es anwendet. Am lichtesten erscheint mir die alkoholische und einfach konz. wässerige Lösung. Sie vermögen auch Tuberkelbacillen überhaupt nicht oder bei sehr langer Einwirkung doch nur höchst schwach anzufärben. Zu verwerfen sind dagegen meines Erachtens für die Nachfärbung Lösungen des Methylenblau, deren Tinktionskraft durch Zusätze von Alkalien (z. B. Löffler'sche Lösung), Anilin, Karbol etc. gesteigert ist. Sie färben 1) den Grund zu dunkel und 2) ziemlich leicht die Tuberkelbacillen selbst, so dafs die Gefahr nahe liegt, Tuberkelbacillen zu verlieren.[1]) Auch die einfach wässerige oder alkoholische Lösung darf man nur möglichst kurze Zeit einwirken lassen, damit der Grund nicht zu dunkel gefärbt wird.

Auf eine Frage will ich noch näher eingehen. Um die einzelnen Prozeduren der Tuberkelbacillenfärbung zu vereinfachen, verwandte B. Fränkel (Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 195) Lösungen von Farbstoffen in Alkohol mit Zusatz von Säuren zur Entfärbung und gleichzeitigen Nachfärbung. Ähnlich verfuhren Gabbet (The Lancet Nr. 3319) und von Ermengem (Manuel technique de Microbiologie 1887 p. 130). Saure Nachfärbungsflüssigkeiten.

Es ist nun die Frage, ob sich dieser Zusatz von Säure zum Farbstoff empfiehlt. Zwar wird dadurch das ganze Verfahren wesentlich

[1]) Noch aus einem anderen Grunde ist die Anwendung alkalischer Methylenblaulösung zu verwerfen, worauf mich Herr Dr. Th. Weyl ganz besonders aufmerksam machte. Fuchsin wird, wie er mir durch Versuche demonstrierte, nicht nur durch reine Alkalien, sondern auch z. B. durch die Löffler'sche Lösung mehr oder weniger schnell entfärbt. Es ist daher nicht nur wahrscheinlich, sondern läfst sich durch direkte Versuche beweisen, dafs auch die Fuchsinfärbung der Tuberkelbacillen durch alkalische Methylenblaulösungen geschädigt wird.

abgekürzt. Ich teile aber vollkommen die von P. Guttmann (Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 14 p. 221) seinerzeit gegen diese Vereinfachung erhobenen Bedenken. Bei getrennter Entfärbung und Nachfärbung werden die Präparate im allgemeinen schöner; man hat die Beurteilung des Effekts und dadurch die Behandlung des Präparates dabei mehr in seiner Gewalt. Bei zusammengezogener Entfärbung und Färbung gehen ganz sicher, wie man sich an Präparaten von Reinkulturen überzeugen kann, manche Tuberkelbacillen durch Entfärbung verloren, weniger bei der mit Schwefelsäure versetzten Gabbet'schen, als bei der Fränkel'schen mit Salpetersäure versetzten Methylenblaulösung. Dies genügt mir für meine Person, diese Methoden nicht mehr in Anwendung zu ziehen, trotz der grofsen Bequemlichkeit ihrer Ausführung.

Einzeitig polychromatische Färbung.

Eine ganz eigentümliche Stellung nimmt die zur Gruppe der einzeitig polychromatischen Färbungen gehörende Methode von Gibbes (The Lancet 5. Mai 1883 p. 771) ein, welche Färbung und Nachfärbung in einen Akt zusammenzieht, während die Entfärbung nachträglich durch Methylalkohol bewirkt wird. Sie wurde von Baumgarten (ohne günstige Resultate) nachgeprüft. Etwas günstigere Resultate erhielt B. Fränkel (Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 195) und Plaut (Färbungsmethoden zum Nachweis der Fäulnis erregenden und pathogenen Mikroorganismen. IV. Aufl. Leipzig 1885). Man hat der Methode vorgeworfen, dafs auch andere Mikrobien in der Tuberkelbacillenfarbe gefärbt blieben und dafs umgekehrt einzelne Tuberkelbacillen in der zweiten Farbe umgefärbt werden. Dies scheint bei vorsichtiger Anwendung nicht der Fall zu sein. Hervorzuheben ist die grofse Haltbarkeit der Präparate; die fremden Mikrobien werden zudem sehr distinkt gefärbt. Vielleicht läfst sich in ihrer Art noch eine vollkommenere Methode finden. Theoretisch ist sie von dem gröfsten Interesse, weil sie zeigt, dafs die Tuberkelbacillen auch aus einem Farbengemisch sich allein durch spezifische Elektion isoliert färben.

Zum Schlufs noch einige rekapitulierende Bemerkungen über die Tuberkelbacillenfärbung im allgemeinen. „Die Sicherheit der Färbung mufs bei der Auswahl der Methode für diagnostische Zwecke der ausschlaggebende Gesichtspunkt sein“ (B. Fränkel, Berl. Klin. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 195). Daher mufs man darauf bedacht sein, zunächst die Färbung möglichst intensiv zu machen. Vom Augenblicke der vollendeten Färbung ab wird die Färbung durch jede nachfolgende Prozedur mehr oder weniger geschädigt, resp. sie kann es werden. Daher sind Entfärbung und Nachfärbung mit besonderer Rücksichtnahme auf das Erhaltenbleiben der Tuberkelbacillenfärbung auszuwählen und so kurz wie thunlich einzurichten! Will man die einzelnen Prozeduren sehr beschleunigen, so empfiehlt es sich, gleichartige, also vorzüglich nur alkoholische Lösungen für Entfärbung und Nachfärbung in Anwendung zu ziehen, da bei Abwechseln von Alkohol und Wasser, oder umgekehrt, die Flüssigkeit nur schlecht am Glase haftet. Es ist ferner besonderes Gewicht darauf zu legen, „dafs die benutzten Methoden die Bacillen nicht blofs färben, sondern sie im Verhältnis zur Umgebung und namentlich zu den Kernen auch recht grell (rot, violett oder blau) hervortreten lassen“ (Weigert, D. Med. Wschr. 1883 Nr. 24 p. 351), da nur so der Abbé'sche Beleuchtungsapparat ausgenutzt werden kann.

D. Weitere Behandlung des Präparates.

Nachdem das Präparat alle Färbungs- und Entfärbungsflüssigkeiten passiert hat, wird es in Wasser abgespült, um etwaigen Farbstoffüberschufs zu entfernen.[1]) Es ist dabei zu beachten, dafs sich häufig zwischen den Branchen der Pinzette, mit der man das Präparat gehalten hat, nach dem Gesetze der kapillären Attraktion eine geringe Menge Färbungsflüssigkeit ausgezogen hat, welche dann später beim Öffnen der Pinzette ausfliefsend das Präparat beschmutzt. Man halte daher im Augenblick des Entfernens der Pinzette diese geneigt, so dafs das Deckglas am höchsten steht, und ziehe die Pinzette lieber vorsichtig vom Präparate ab, wobei man letzteres zwischen zwei Fingern der linken Hand festhält. Dann reinige man gleich zunächst die Pinzettenbranchen von Farbstoffresten durch Abspülen, ev. durch Ausglühen, und spüle das von neuem gefafste Präparat in einer Schale mit Wasser oder unter einem Wasserstrahl ab.

Man kann nun, wenn man das Präparat weiter untersuchen will, mitunter in die Verlegenheit kommen, nicht genau zu wissen, welches die richtige Seite ist, zumal wenn die Methode sehr lange dauerte, oder wenn das Deckglas herunterfiel etc. etc. Die Entscheidung ist, wenn das Deckglas trocken ist, meist nicht schwer, wenn man bei leichtem Hin- und Herdrehen des Präparates sorgfältig auf die Spiegelung des Glases achtet. In schwierigen Fällen und bei noch nassen Präparaten kann man sich auch dadurch zu helfen suchen, dafs man mit einer Nadel vorsichtig die fragliche Seite zu ritzen probiert.[2]) Die Entscheidung wird mitunter recht schwer, wenn die Präparatenschicht sehr dünn war oder Farbstoffniederschläge auf der Rückseite sind. Letztere stellen aber meist gleichmäfsige, metallspiegelnde Flächen dar, während die Sputumschicht als ein mehr oder weniger regelmäfsig streifiges matteres Relief erscheint.

Ist man über die richtige Seite orientiert, so lege man das noch mit Wasser bedeckte Deckglas auf einen sorgfältig gereinigten Objektträger, die Schichtseite nach unten, ein mehrfach zusammengefaltetes Stück Fliefspapier darüber und drücke letzteres sanft, aber doch fest an. Das Fliefspapier saugt den Wasserüberschufs auf. Man entfernt dann etwaige Farbstoffniederschläge von der Rückseite des Deckglases mit einem etwas feuchten Tuch, schlimmstenfalls mit etwas Alkohol, und das Präparat ist zur sofortigen Untersuchung fertig.

Was die Wahl des Objektträgers anlangt, so ist es ziemlich gleichgültig, welches Format derselbe hat. Als ein sehr handliches Format hat sich das sogenannte englische (76:26 mm) die weiteste Verbreitung erworben. Gar nicht gleichgültig dagegen ist die Dicke des Objektträgers. Zu dünne gehen noch, aber zu dicke sind entschieden zu verwerfen. Man mufs eben darauf Rücksicht nehmen, dafs unsere Mikroskopsysteme nur für eine gewisse Objektträger- und Deckglasdicke korrigiert sind. Was die Glassorte der Objektträger anbetrifft, so vermeide man grünliches Glas und ziehe unbedingt das, wenn auch theurere, weifse deutsche sogen. Solinglas

---

[1]) Einige nehmen überflüssigerweise angesäuertes Wasser oder Alkohol, die nur bei zu stark ausgefallener Grundfärbung notwendig werden.

[2]) Um jegliche Verwechselung der Deckglasseiten auszuschliefsen, empfiehlt Mittenzweig (Bakterienätiologie, Berlin 1886 p. 78) das Präparat mit einer Schieberpinzette stets so gefafst zu halten, „dafs der Pinzettenknopf nach der armierten Seite des Deckglases hin liegt“.

vor. Geschliffene Kanten am Objektträger sind überflüssig, aber sehr angenehm, weil die Putztücher dann nicht, wie von den scharfen Kanten, zerschnitten werden. Objektträger mit polierten Kanten sind Luxusartikel. Sie sehen wohl eleganter aus, machen das Präparat aber darum nicht besser. Man reinige die Objektträger mit einem weichen Leinwandläppchen, das ev. mit etwas verdünntem Alkohol befeuchtet wird, und putze sie unmittelbar vor dem Gebrauch nochmals mit einem weichen Leder. Es gibt nun gewisse im Glase liegende Fehler des Objektträgers, welche auch durch Putzen nicht entfernt werden können (cf. Arnold, Münster. Ztschr. f. Mikrosk. Jahrgang 1878 Hft. VII cit. nach Bachmann) und sich auf der einen Seite als Vertiefungen, auf der anderen als Erhöhungen markieren. Erstere ist die „schlechte“ Seite des Okjektträgers, weil die fehlerhaften Punkte, wenn man das Präparat auf diese Seite legt, stets durchschimmern, was bei der „guten“ Seite nicht der Fall ist. Man lege also stets die letztere nach oben.

Wünscht man ein und dasselbe Präparat öfter in Wasser zu untersuchen, so fixiere man das Deckglas nach einem Vorschlag, den ich einer mündlichen Mitteilung Wyssokowicz' verdanke, an seinen vier Ecken mit einem Tröpfchen Wachs oder Paraffin am Objektträger. Will man es dann wieder von neuem untersuchen, so hat man nur nötig, das unter dem Deckglas verdunstete Wasser durch Zusatz vom Rande aus zu ersetzen.

Beabsichtigt man eine dauernde und dauerhafte Konservierung des Präparates, so bettet man dasselbe jetzt wohl allgemein in Kanadabalsam ein.[1]) Dieser ist das Harz von Pinus canadensis. Im ursprünglichen Zustand eignet er sich jedoch nicht, weil er gewisse Substanzen enthält, welche die Bacillenfärbung ausziehen.[2]) Man mufs diese daher durch Erhitzen erst entfernen. Einige (Ehrlich [Charité-Annalen 1886 Bd. XI p. 136], Petri [Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739]) haben vorgeschlagen, die Präparate direkt in diesen erhitzten und eingedickten Balsam, von dem ein auf das Präparat gebrachter Tropfen sofort erstarren soll, einzuschliefsen, z. B. auf der Hitzplatte bei 100° (Koch, Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt p. 10, warnt davor, weil heifser Balsam die Bacillenfärbung schädige). Meist bettet man jedoch in verdünnten Balsam ein. Als Ver-

[1]) Einige, zuerst wohl B. Fränkel (Berl. Klin. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 195), empfehlen das Präparat in Immersionsflüssigkeit einzubetten, doch erhärtet diese schwieriger.

[2]) Diese Entfärbung beruht nach den Untersuchungen Unna's (Monatshefte f. prakt. Dermatol. Ergänzungsheft 1885 p. 47, cit. nach Baumgarten, Jahresbericht 1885) nicht, wie man vermutete, auf einer Oxydation durch die Aufhellungs- resp. Einschlufsmittel, sondern auf einer Reduktion. Unna prüfte die gebräuchlichen Aufhellungs- und Einschlufsmittel nach der Methode von Dr. Hermann Hager (die zu prüfende Flüssigkeit, resp. ihre Lösung in absolutem Alkohol oder Benzol, wird mit einigen Tropfen salpetersaurer Quecksilberoxydullösung versetzt, wobei, falls die Substanz sauerstoffbegierig ist, graue Quecksilberausscheidung erfolgt) und fand danach, dafs Nelken-, Terpentinöl, sowie die gewöhnlichen Balsame in Chloroform oder Terpentin gelöst den Anilinfarben gefährlich sind. Cedernöl und die Kohlenwasserstoffe der Benzolxylolreihe erwiesen sich dagegen als Lösungsmittel der Harze ihnen bei weitem überlegen. Doch kann die Sauerstoffgier nicht wohl als alleiniger schädlicher Faktor angesehen werden, da auch Körper wie Glycerin und Karbolsäure, welche auch nicht basische Anilinfarben ausziehen, nach der Hager'schen Reaktion keine Reduktionswirkung besitzen. Nebenbei ist die saure Reaktion der Harze schädlich, doch wohl nicht die saure Reaktion an sich, sondern vielmehr der Umstand, dafs die Säuren mit den im Gewebe fixierten Anilinfarben neue, aber ungefärbte Verbindungen eingehen.

dünnungsmittel darf man weder Chloroform, wovor Orth (Berl. Klin. Wschr. 1883 Nr. 28 p. 421) besonders warnt, noch das von Koch ursprünglich (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 10) empfohlene Terpentinöl gebrauchen, weil beide nicht indifferent genug sind. Als gänzlich indifferentes Mittel erfreut sich dagegen das Xylol grofser Beliebtheit. Ich für meine Person gebe einem ziemlich dünnflüssigen tropfbaren Balsam für Deckglaspräparate entschieden den Vorzug. „Der Balsam mufs vorher von allen ätherischen Ölen befreit sein, was man am einfachsten so erreicht, dafs man gewöhnlichen Kanadabalsam in Chloroform löst, die Lösung in ein sehr kurzes Reagensglas filtriert und dieselbe in diesem so oft vorsichtig über der Spiritusflamme aufkocht, bis jede Spur des Chloroformgeruches verschwunden ist; die ätherischen Öle sind dann ebenfalls verdunstet.“ Diesen eingedickten und von ätherischen Ölen befreiten Balsam löst man dann bis zur gewünschten Konsistenz in Xylol. Durch gelindes Erwärmen kann man die Lösung beschleunigen (Unna, Dermatol. Studien 1886 Hft. 1 p. 8). Man bewahrt den Balsam am besten auf in weithalsigen Fläschchen mit aufgeschliffener Kappe, in denen ein Glasstab steht. Sehr zweckmäfsig ist auch die Aufbewahrung des Balsams in Tuben (jedoch nur wenn man diese viel gebraucht, da man sonst viel Ärger mit Ankleben des im Deckel liegenden Korkplättchens und Auslaufen etc. hat). Man schliefst das Präparat ein, indem man einen Tropfen Balsam entweder auf den Objektträger bringt und das Deckglas sanft auflegt, oder den Tropfen auf die Schichtseite des Deckgläschens fallen läfst und das Deckgläschen dann vorsichtig auf den Objektträger auflegt. Besonders in letzterem Falle breitet sich der Balsam, wie ich finde, leichter aus. Weniger möchte ich dazu raten, den Objektträger auf das mit dem Balsamtropfen versehene Deckgläschen zu legen und dann erst den Objektträger umzukehren, wie Peters (Die Untersuchung des Auswurfs auf Tuberkelbacillen, Leipzig 1886 p. 22) empfahl. Die Behandlung ist nicht ganz so sicher. Die Ausbreitung des Balsamtropfens kann man durch leichtes Erwärmen beschleunigen. Um die Deckgläser recht schön am Objektträger anliegend zu erhalten, kann man durch besondere Objektpresser einen leichten Druck auf sie ausüben. Denselben Zweck erreicht man sehr einfach durch Aufsetzen mehr oder minder hoher Bleicylinder, z. B. von Langbleigeschossen.

Will man ein eingetrocknetes Wasserpräparat nachträglich noch in Balsam einbetten, so läfst man es entweder von selbst ganz lufttrocken werden oder beschleunigt den Prozefs durch vorsichtiges Erhitzen. Das Deckglas springt dann oft schon von selbst ab, ev. helfe man mit einer Präpariernadel durch leichtes Abheben nach. Man hüte sich aber, ein noch nasses Präparat zu s c h i e b e n, weil sich sonst dabei leicht Fetzen von der Präparatenschicht loslösen. Noch leichter erreicht man meist den gewünschten Zweck, wenn man vom Rande her überschüssiges Wasser zusetzt, so dafs das Deckglas flottiert. Jetzt läfst es sich auch ohne Gefahr verschieben und abheben.

Im allgemeinen halte ich es für zweckmäfsiger, die Präparate zuerst stets in W a s s e r zu untersuchen. Die Untersuchung in Glycerin, welche z. B. von Orth (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 28 p. 421), sowie Biedert und Sigel (Virch. Archiv 1884 Bd. 98 p. 93) sehr befürwortet wurde, bietet keine besonderen Vorteile. Manche feinen Details des Untergrundes und fremder Mikrobien gehen bei der Balsameinbettung nachträglich unrettbar verloren, da der Balsam das Strukturbild mehr auslöscht.

Wunscht man ein in Kanadabalsam eingeschlossenes Präparat umzubetten, so erwärme man den Objektträger leicht, bis das Deckglas durch Schmelzen des Balsams beweglich geworden ist, hebe es ab, lege es in Xylol und trockne es. Öl- und Balsamflecken auf dem Präparat entfernt man leicht mit Xylol. — Die Gläser von alten Kanadabalsampräparaten reinigt man nach Bachmann (Leitfaden zur Anfertigung mikroskopischer Dauerpräparate. R. Oldenbourg, München p. 16), indem man sie auf einen Tag in rektif. Alkohol bringt (öfters umschütteln!) und dann in heifses Wasser mit etwas Soda oder Pottaschezusatz legt. Nach kurzer Zeit lassen sich dann die Harzreste mit einem Leinwandlappen abwischen.

KAPITEL IV.

Betrachtung des fertigen Präparates.

A. Technik.

Zur Untersuchung des fertigen Präparates auf Tuberkelbacillen bedarf man starker, 500—700facher Vergröfserungen. Nach Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 11) sollen diese durch Ölimmersion $^1/_{12}$ und die passenden Okulare (welche je nach der Firma verschieden sind, z. B. Zeifs $^1/_{12}$ Ok. II) erreicht werden. Es ist freilich unbestreitbar, dass man bereits bei sehr viel schwächerer, ja bei sehr reichlichem Bacillengehalt schon bei 50facher Vergröfserung die Tuberkelbacillen wie einen feinen farbigen Staub oder zarte Strichelung oder farbige Flecken wahrzunehmen vermag. Diese schwachen Vergröfserungen kann man mit Vorteil benutzen, um sich über den Gehalt des Präparates an Tuberkelbacillen und über besonders günstig zu weiterer Untersuchung erscheinende Stellen (bei Schnitten z. B. über Riesenzellen etc.) im allgemeinen zu orientieren. Zur genauen Diagnose sind aber, besonders bei nur spärlich vorhandenen Tuberkelbacillen, unbedingt Immersionssysteme in Anwendung zu ziehen, da es eine feststehende Thatsache ist, dafs durch bessere und stärkere Systeme immer mehr Bacillen zur Anschauung gebracht werden. Im Notfall kann man auch mit Wasserimmersion auskommen. Dann ist aber das System jedesmal für die gebrauchte Deckglasdicke durch Einstellen der Skala des Korrektionsringes auf die Marke zu korrigieren. Da die Deckglasdicken oft ungenau angegeben werden, mufs man ev. durch Verschieben des Korrektionsringes während des Hineinsehens in das Mikroskop die gröfste Bildschärfe ausprobieren.

Wasserimmersionen, resp. die von Petri (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739) warm empfohlene Chloralhydratimmersion haben den Vorteil, dafs die Linsen bequem durch Abwaschen mit einem feuchten Tuche gereinigt werden können. Viel vollkommener, allerdings auch viel teurer als die Wasserimmersionssysteme sind die Systeme für sogen. homogene Immersion, die sogen. Ölimmersionen, bei denen die Korrektion unnötig ist. Für sie bedarf man als Immersionsflüssigkeit eines ätherischen Öles, welches durch Eindicken resp. Vermischen mit anderen Substanzen auf den Brechungsindex des Glases (1.52) gebracht ist. Früher benutzte man z. B. Fenchelöl mit Ricinusöl; jetzt ist wohl allgemein das eingedickte Cedernholzöl, kurzweg Cedernöl genannt, für diesen Zweck im Gebrauch. Man erhält es in

sogen. Kobaltfläschchen mit aufgeschliffener Kappe und thut gut, für jedes Instrument **nur das von der gleichen Firma bezogene Immersionsöl** zu verwenden, da sich bei den einzelnen Firmen Unterschiede finden und die Güte des Bildes durch Anwendung eines Öles von abweichendem Index beeinträchtigt wird. Sehr gut sind die Ölimmersionssysteme von Zeiſs, Seiberth, Hartnack, Winkel und Leitz etc. Letztere besonders haben sich, da sie bei guter Leistungsfähigkeit bedeutend billiger sind, groſser Verbreitung zu erfreuen. Die besten Resultate erhält man mit den neueren sog. apochromatischen Ölimmersionen, deren Einführung in die Praxis nur der sehr hohe Preis hinderlich entgegensteht. Für die Untersuchung bediene man sich **zunächst immer der schwächeren** Okulare, z. B. Leitz Ok. 1. Erst **danach** gehe man zu stärkeren, z. B. Ok. 3 über. Je stärker das Okular ist, um so lichtschwächer wird unter sonst gleichen Umständen das erhaltene Bild. Man kann daher bei intensiverer, z. B. künstlicher Beleuchtung immer **stärkere** Okulare verwenden, als bei schlechterer Beleuchtung, z. B. trübem Tageslicht. Für die apochromatischen Ölimmersionen, welche verhältnismäſsig viel stärkere Okularvergröſserung vertragen, sind besondere, sogen. Kompensationsokulare konstruiert, von denen man auch zunächst die schwächeren Nummern in Anwendung zieht.

Zur Vornahme der Untersuchung legt man das Präparat auf den Objekttisch des Mikroskops, bringt auf das Deckglas oder auf die Unterseite der Frontlinse der an den Tubus angeschraubten Ölimmersion, oder an beide einen Tropfen der vorgeschriebenen Immersionsflüssigkeit und bewegt den Tubus so weit abwärts, bis Präparat und System durch eine Brücke von Immersionsflüssigkeit verbunden sind. Die Bewegung muſs dabei vorsichtig, drehend, nie brüsk geschehen, da es sonst leicht passiert, daſs der Tubus mit einem plötzlichen Rucke herunterfährt und das Präparat oder die wertvolle Linse zerstört werden. Viel vorteilhafter ist es daher, wenn der Tubus mit Zahn und Trieb armiert ist, welche ein sanftes Niederschrauben, natürlich unter steter Kontrolle durch seitliche Beobachtung gestatten. Die weitere Einstellung erfolgt dann während des Hineinsehens in das Mikroskop durch vorsichtiges Abwärtsbewegen des Mikroskop-Tubus (ev. mittels Zahn und Trieb), bis die gröbsten Umrisse des Bildes erscheinen; die allerfeinste Einstellung geschieht mittels der Mikrometerschraube.

Um die Immersionssysteme gut ausnutzen zu können, ist die Anwendung eines Kondensors nach Abbé, welcher unter dem Mikroskoptisch eingeschoben wird, unerläſslich. (Das Einsetzen des Kondensors ist bequemer am umgelegten Stativ.) **Durch den Kondensor wird das Strukturbild vollkommen ausgelöscht, so daſs nur das Farbenbild zur Anschauung kommt** (Koch, Untersuchungen über die Ätiologie der Wundinfektionskrankheiten. Leipzig 1878 p. 32 ff.). Um den maximalen Effekt zu erreichen, muſs man aber die **Stellung des Kondensors** zum Präparat **regulieren**, da diese je nach der Dicke des Objektträgers und Präparates **verschieden** sein muſs. Man verschiebt daher den Kondensor in seiner Hülse nach oben oder unten unter sanftem Drehen während, man in das Mikroskop hineinsieht, bis das Strukturbild verlöscht und das Farbenbild deutlich und scharf hervortritt.[1]) Sehr erleichtert wird dies, wenn

[1]) Das Bild der Lichtquelle muſs in die Objektebene fallen!

der Abbé'sche Kondensor ebenfalls mittels Zahn und Trieb zum Heben und Senken eingerichtet ist. Der Abstand der Oberfläche des Abbé'schen Kondensors vom Präparat ist verschieden bei einzelnen Instrumenten, namentlich bei den von verschiedenen Firmen bezogenen. Bei solchen Kondensoren, bei denen dieser Abstand sehr gering ist, kann man durch Aufbringen eines Tropfens Immersionsflüssigkeit auf die Oberfläche des Kondensors mitunter noch mit Vorteil die sogen. „Kondensorimmersion" zwischen Kondensor und Präparat versuchen, um dem Objekt noch mehr Licht zuzuführen (indem dadurch der Öffnungswinkel vergröfsert wird).

Der Kondensor ist zur Untersuchung auf Tuberkelbacillen ohne jegliche Blende in Anwendung zu ziehen („offener Kondensor"). Blenden gebraucht man nur, wenn man das Strukturbild wieder schärfer zur Anschauung bringen will. Ganz praktisch ist dabei die unter dem Abbé'schen Kondensor angebrachte sogenannte „Irisblende". Man kann den Beleuchtungseffekt des Abbé'schen Kondensors noch herabsetzen, indem man durch Niederschrauben des Kondensors seinen Brennpunkt absichtlich mehr oder weniger unterhalb der Objektebene verlegt.

Für den Abbé'schen Kondensor ist der Planspiegel zu benutzen, da der Apparat so konstruiert ist, dafs er parallele Strahlen ca. 2 mm oberhalb seiner obern Linse in seinem Brennpunkt vereinigt, welcher in die Objektebene fallen soll. Dies wäre bei Anwendung des Hohlspiegels unmöglich, da dieser schon konvergente Strahlen dem Kondensor zuführt, so dafs der Bildpunkt dann nicht mehr in die Objektebene, sondern unterhalb derselben fällt (cf. Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie p. 43).

Durch vorsichtige Änderungen in der Stellung des Abbé und des Planspiegels, ev. der Korrektionsfassung (bei Wasserimmersion) und dann der Mikrometerschraube sucht man die gröfstmögliche Helligkeit und Schärfe des Bildes zu erreichen. Zu beachten ist, dafs die neueren Systeme auf eine bestimmte Tubuslänge korrigiert sind. Man hat daher den Tubus auf die vorschriftsmäfsige Länge (je nachdem 160 oder 170 mm) auszuziehen.

„Etwa vorkommende gröfsere Abweichungen der Deckglasdicke" lassen sich nach den Angaben des Zeifs'schen Katalogs „durch eine geringe Verlängerung des Tubus bei zu dünnem Deckglas, durch eine geringe Verkürzung des Tubus bei zu dickem Deckglas ausgleichen." —

Als Lichtquelle benutzt man bei Tageslicht am besten das von einer weifsen Wolke, Wand, Vorhang etc. reflektierte diffuse Licht. Viel schlechteres Licht erhält man von einem wolkenfreien blauen Himmel. Zu vermeiden ist direktes Sonnenlicht. Sehr häufig ist man, besonders bei trüben Wintertagen, auf künstliche Beleuchtung angewiesen. Man kann gewöhnliche oder Gaslampen dazu benutzen, ferner eigene Mikroskopierlampen von Dr. Lassar und Hartnack etc., oder das Auer'sche Gasglühlicht.

Die gelbe Farbe des künstlichen Lichts kann korrigiert werden durch mehr oder weniger gefärbte blaue (Kobalt-) Gläser, welche auf einer Seite matt sind und zwischen Lichtquelle und Spiegel, oder Spiegel v. Abbé, oder Okular und Auge eingeschaltet werden. Oder man bringt zwischen Flamme und Spiegel eine mit mehr oder weniger konzentrierter schwefelsaurer Kupferoxyd-Ammoniaklösung gefüllte Schusterkugel. Sehr einfach und bequem ist ein Verfahren, welches ich zuerst in unserem Laboratorium gesehen habe, und welches, wenn

ich nicht irre, von Dr. Wyssokowicz-Charkow stammt. Man legt ein dünnes geöltes Seidenpapier zwischen Kondensor und Objektträger und kann dann ohne weiteres gewöhnliche oder Gasflammen benutzen. Die Intensität der Beleuchtung reguliert man durch Näher- oder Fernerrücken der Lichtquelle. — Vor den Wärmestrahlen kann man sich durch vorgesetzte Schirme schützen. Für sehr starke Vergröfserungen habe ich mitunter auch die Magnesiumlampe in Anwendung gezogen. Biedert (Biedert und Sigel, Virch. Arch. 1884 Bd. 98 p. 137) empfiehlt bei Licht abwechselnd mit beiden Augen zu untersuchen, um Überblendung zu verhüten.

Ehe man das Präparat nach der Untersuchung wegnimmt, ist jedesmal zuvor der Tubus in die Höhe zu schrauben, damit die Linse oder das Präparat nicht verletzt werden. Das Immersionswasser bei Wasserimmersion saugt man mit einem Stückchen Fliefspapier ab. Das Immersionsöl entfernt man von der Ölimmersion am besten mit einem weichen Tuch. Man versäume es nicht, das System jedesmal davon zu säubern, da manche Linse sonst Schaden leidet. Angetrocknetes Öl nimmt man mit einem mit Benzin oder Xylol leicht angefeuchteten weichen Tuch oder Pinsel ab. Das Präparat selbst reinigt man von dem Immersionsöl, indem man das letztere mit einem Stückchen Fliefspapier abwischt. Bei Balsampräparaten läfst man es jedoch besser erst antrocknen, bis der Balsam verhärtet ist, und entfernt es dann mit einem mit Xylol befeuchteten Tuche oder Pinsel. Die Linsen putzt man am besten mit einem weichen Lederlappen. Häufig werden Okulare bei längerem Stehen trübe. Diese Trübung findet meist ihre Erklärung in einem mehr oder weniger dichten Beschlag, welcher sich auf der obern Fläche der untern Linse des Okulars gebildet hat und durch Abwischen mit Lederlappen gewöhnlich leicht entfernt werden kann. Flecken von Immersionsöl oder Balsam auf den Metallteilen lassen sich leicht mit einem mit Xylol befeuchteten Läppchen entfernen, worauf man mit einem Lederlappen die betreffenden Teile vollends blank putzt.

B. Befund.

a) Tuberkelbacillen.

Bei der Durchmusterung des Präparates ist das Hauptinteresse naturgemäfs auf den Nachweis der Tuberkelbacillen gerichtet. Sie sollen daher zunächst in erster Linie besprochen werden, obwohl sie bei Betrachtung des Präparates häufig gar nicht gleich ins Auge fallen, sondern es oft der angestrengtesten Aufmerksamkeit bedarf, um sie überhaupt nachweisen zu können, ja ihr Nachweis sogar nicht selten gänzlich misfslingt. Es ist hier wohl der Ort, auf die morphologischen Eigenschaften und Besonderheiten der Tuberkelbacillen etwas näher einzugehen. Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 15) beschreibt die Tuberkelbacillen bei Untersuchung in ungefärbtem Zustande und entsprechender Abblendung „als sehr feine und kurze Stäbchen. Dieselben sind meistens in kleinen Gruppen vereinigt; an den einzeln liegenden Stäbchen ist aufser der sogenannten Molekularbewegung keine Eigenbewegung zu bemerken. Die Länge der Stäbchen beträgt ungefähr ein Viertel bis zur Hälfte vom Durchmesser eines roten Blutkörperchens. Eine Gliederung ist an ihnen nicht wahrnehmbar, auch lassen sich ihre Beziehungen zu den umgebenden Zellen bei dieser Art der Untersuchung nicht erkennen, und man würde, wenn

keine weiteren Beobachtungen angestellt werden könnten, eher irgendwelche leblose Gebilde als Bakterien vor sich zu haben glauben."

Ungefähr gleichzeitig mit Koch und unabhängig von ihm gelang es Baumgarten (Cbl. f. med. Wissensch. 1882 Nr. 15 p. 257), die Tuberkelbacillen als spezifische Gebilde mittels Aufhellung der Präparate durch sehr verdünnte Kali- oder Natronlaugen in ungefärbtem Zustande darzustellen.

Die gefärbten Tuberkelbacillen beschreibt Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 16) wie folgt: „Sie erscheinen stets in Form von Stäbchen, deren Länge, wie schon bei der Beschreibung der ungefärbten Bacillen angegeben wurde, einem Viertel bis der Hälfte vom Durchmesser eines roten Blutkörperchens gleichkommt (ungefähr 0,0015—0,0035 mm). So schwankend die Länge der Bacillen sich verhält, ebenso konstant ist ihr Dickendurchmesser, vorausgesetzt, dafs ein und dieselbe Färbungsmethode zur Verwendung kommt." Sie sind „gewöhnlich nicht vollkommen gerade Stäbchen, meistens findet man an ihnen leichte Knickungen oder Biegungen und oft auch eine geringe Krümmung, welche an den längsten Exemplaren selbst bis zu den ersten Andeutungen von schraubenförmiger Drehung gehen kann."

Wie wir in dem Kapitel über Färbung gesehen haben, verhalten die Tuberkelbacillen sich Farbstoffen gegenüber sehr ablehnend. Behandelt man ein Tuberkelbacillen enthaltendes Präparat mit geeigneten Farblösungen, so nehmen von allen Teilen des Präparates die Tuberkelbacillen die Farbe stets zuletzt an. Auf diesen Widerstand, den sie der Färbung, zumal der Färbung in einfach wässerigen oder wässerig-alkoholischen Anilinfarben entgegensetzen, konnte daher später Baumgarten (Cbl. f. d. med. Wissensch. 1882 Nr. 25 p. 433) seine negative Methode des Tuberkelbacillennachweises begründen. Koch und Ehrlich war es unterdessen gelungen, die Tuberkelbacillen auch isoliert gefärbt zur Darstellung zu bringen. (Alle weiteren zur Färbung der Tuberkelbacillen gemachten Vorschläge sind im Grunde nur Modifikationen dieser beiden ersten Methoden.) Es stellte sich dabei heraus, dafs der Tuberkelbacillus wie der Färbung, so auch der Entfärbung den gröfsten Widerstand entgegensetzte, so dafs er sogar starken Mineralsäuren gegenüber die einmal angenommene Farbe hartnäckig festhielt, während das Gewebe und die accidentellen Bakterien dabei vollständig entfärbt, resp. in der Gegenfarbe nachgefärbt wurden. Daraufhin gründete Ehrlich (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270) seine berühmte „Hüllentheorie". Die Substanz des Tuberkelbacillus könne sich von der anderer Bacillen nicht wesentlich unterscheiden, da auch sie sich in allen basischen Anilinfarbstoffen färben lasse. „Wenn nun aber dennoch der Tuberkelbacillus sich durch die Färbung von allen anderen Pilzen unterscheidet, so beruht dies auf dem Vorhandensein einer Hülle, der eigentümliche und spezifische Eigenschaften zukommen. Die erste von ihnen, auf welche die Koch'sche Methodik ohne weiteres hinweist, ist diejenige, dafs die Umhüllungsschicht für Farbstoffe nur unter dem Einflufs von Alkalien durchgängig ist;" die zweite die, „dafs die Hülle unter dem Einflufs von Säuren, starken Mineralsäuren, ganz undurchgängig ist."

Ehrlich's Hüllentheorie.

Beide Behauptungen Ehrlich's haben sich in der Folge als falsch erwiesen. Die supponierte „Bacillenhülle" wird nicht etwa nur unter dem Einflufs von Alkalien durchgängig für Farbstoffe; jedenfalls

bedarf es dafür nicht einer alkalischen Reaktion der Farbflüssigkeit, da auch ohne jegliche Zusätze zur Farbflüssigkeit, ja sogar in sauren Farblösungen unter Umständen die Färbung der Tuberkelbacillen gelingt. Auch wird Alkali von den Tuberkelbacillen gar nicht besonders stärker aufgenommen und festgehalten als von den übrigen Bestandteilen des Präparates, wie Petri (Berl. Klin. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739) durch Behandeln der Präparate mit Kalilauge, Abspülen, Behandeln mit Phenolphthalëin, Abspülen und successives Prüfen mit Phenolphthalëin und Abspülen konstatierte. Auch der zweite Teil der Ehrlich'schen Hüllentheorie, „dafs die Hülle unter dem Einflufs von Säuren, starken Mineralsäuren, ganz undurchgängig ist", hat sich in der Folge nicht bestätigt, da auch die Tuberkelbacillen unter dem Einflufs von Säuren (aber auch von anderen entfärbenden Agentien) vollkommen entfärbbar sind.[1]) Es hat sich dann im Laufe der Zeit die Anschauung Bahn gebrochen, dafs das spezifische Verhalten der Tuberkelbacillen einzig allein darin zu sehen sei, dafs sie Farbstoffe äufserst schwer (unter Verwendung von Zusätzen etc. leichter) annehmen und ebenso schwer auch wieder abgeben.

Die Tuberkelbacillen sind von anderen Mikrobien also nicht etwa durch qualitative, sondern nur durch quantitative Differenzen (Gottstein, D. Med. Wschr. 1886 Nr. 42 p. 73) unterschieden, wie solche, wenn auch unerheblicher bei den anderen Mikrobien untereinander ebenfalls zu bemerken sind. Diese quantitativen Unterschiede werden beim Erwärmen der Farblösungen resp. Entfärbungsflüssigkeiten verwischt; es tritt dann Färbung und Entfärbung auch bei den Tuberkelbacillen fast momentan ein. Während man anfangs die Eigentümlichkeiten der tinktoriellen Eigenschaften des Tuberkelbacillus rein physikalisch zu erklären versuchte, wollte man sie später nur rein chemisch erklären. Doch glaube ich, wird man auch die erste physikalische Auffassung nicht ganz vernachlässigen dürfen. Je dichteres Gefüge ein Körper hat, um so schwerer wird ein Farbstoff (selbst vorausgesetzt, dafs er den Körper zu färben vermag) in diesen eindringen und auch wieder aus ihm auszuziehen sein. Schon das starke Lichtbrechungsvermögen der Tuberkelbacillen macht es wahrscheinlich, dafs sie eine ziemlich hohe spezifische Dichtigkeit besitzen.[2]) Schon aus diesem Grunde werden also Farbstoffe langsamer in die Tuberkelbacillen eindringen und aus ihnen zu extrahieren sein, im Verhältnis zu den übrigen Bestandteilen des Präparates.

Der bereits in die Tuberkelbacillen eingedrungene Farbstoff kann dann ev. mehr oder weniger beständige Verbindungen mit der Substanz des Bacillus eingehen. Dafs dies der Fall ist, dafür spricht der Umstand, dafs wenn auch (z. B. durch Erwärmen der Farblösung) eine vollständige Färbung aller Tuberkelbacillen des Präparates erzielt ist, durch längeres Einwirkenlassen der Farblösung diese Färbung an Echtheit gewinnt. (Die anfangs lockere chemische

---

[1]) Auch in ihrer spätern zweiten modifizierten Fassung (Charité-Annalen XI 1886) ist die Ehrlich'sche Hüllentheorie nicht haltbar.

[2]) In der That giebt auch Hammerschlag (Cbl. f. Klin. Med. 1891 Nr. 1 ref. Cbl. f. Bakt. 1891 Nr. 8 p. 272) neuerdings an, dafs die Menge der mit Alkohol und Äther aus der Leibessubstanz der Tuberkelbacillen extrahierbaren Substanzen mit durchschnittlich 27% viel mehr betrage als bei anderen Bakterien (7,3—10,1%).

Verbindung zwischen Farbstoff und Bacillensubstanz scheint also allmälig fester zu werden). —

Für das Verstehen der Struktur des Tuberkelbacillus und seiner Färbung sehr wichtig ist die Beobachtung von Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 14), dafs die nach ihm mit alkalischem Methylenblau dargestellten Tuberkelbacillen stets viel schmäler erscheinen und bei Verbänden durch ungefärbte Zwischenräume getrennt sind, während die mit Anilinfuchsin oder Anilinmethylviolett gefärbten Tuberkelbacillen stets viel dicker sind und direkt miteinander zusammenstofsen. „Ferner verschwindet,“ fährt er fort, „die Färbung der intensiv mit Methylviolett gefärbten Bacillen beim Verblassen nicht gleichmäfsig, sondern es verblafst zuerst eine äufsere Schicht, so dafs von dem dicken Bacillus ein dünnerer immer noch intensiv gefärbter Faden übrig bleibt, welcher ungefähr die Dicke des mit Methylenblau gefärbten Bacillus besitzt.“

„Natürlich,“ bemerkt Unna (Cbl. f. Bakt. III 1888 Sep.-Abdr. p. 22), „ist die durch diese Wahrnehmung sicher bewiesene Existenz einer tinktoriell sich abweichend verhaltenden Hülle nicht im geringsten eine Stütze für die damalige Theorie von Ehrlich, welche lediglich die Undurchdringlichkeit letzterer für Säuren zur alleinigen Basis hat.“

Ebenso wie Anilinzusatz ermöglicht auch Zusatz von Karbolsäure etc. zu den Farbstoffen eine Färbung der erwähnten äufseren Schicht.

Gewisse Farbstoffe, wie Fuchsin und die Violette, vermögen also in Verbindung mit Anilin, Karbolsäure etc. auch eine äufsere Schicht — ich will sie, um den Ausdruck „Hülle“ zu vermeiden, kurzweg als Rindenschicht oder Corticalis bezeichnen — des Tuberkelbacillus anzufärben, welche bei Färbung mit alkalischem Methylenblau ungefärbt bleibt resp. bei der Entfärbung sich wieder entfärbt. Methylenblau und ebenso Saffranin dagegen vermögen auch trotz Zusatz von Anilin, Karbolsäure etc. diese Rindenschicht niemals anzufärben — die damit gefärbten Tuberkelbacillen erscheinen immer dünn und durch Zwischenräume getrennt, und es ist nur der „Zentralfaden“ gefärbt. Fuchsin und die Violette in Verbindung mit Anilin und Karbol scheinen also zu der Substanz der Corticalis eine spezifische Affinität zu besitzen. Zum Zustandekommen dieser Verbindung gehört aber wohl aufserdem noch eine bestimmte Reaktion der Flüssigkeit, da, wenn diese Farblösungen angesäuert werden, die Tuberkelbacillen trotz Anilin- oder Karbolsäurezusatz schmal erscheinen (cf. oben).

Die mit Anilin oder Karbolsäure etc. versetzten Fuchsin- resp. Violettlösungen färben also Zentralfaden und Corticalis. Letztere wird stets zuerst gefärbt. Lösungen von Fuchsin in Pyridin (de Souza, refer. D. Medztg. 1889 Nr. 61 p. 705) oder Anilinöl scheinen die Corticalis allein zu färben; denn die damit behandelten Tuberkelbacillen sehen dick, aber „lackfarben“, hohl aus. Erst nach Anfärbung und Durchdringung der Corticalis scheint der Zentralfaden gefärbt zu werden. Ist Zentralfaden und Corticalis gefärbt, so erscheinen die Bacillen dick, aber solide gefärbt. Ihre Färbung hat eine gröfsere Brillanz, vielleicht schon wegen der Summation des Farbeffekts dickerer gefärbter Schichten.[1]) Entfärbt man nun die so gefärbten Tuberkel-

[1]) Mit Anilin- resp. Karbolfuchsin gefärbte Tuberkelbacillen erscheinen mir

bacillen, so verliert allmälig zuerst die Corticalis die Farbe wieder und man behält zunächst noch den Zentralfaden übrig. Diese Auffassung stimmt ganz gut überein mit den von Schottelius (Cbl. f. Bakt. 1888 Nr. 23 p. 705) und Bütschli („Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen", Leipzig 1890) für andere Bakterien ausgesprochenen Anschauungen. Beim Altern der Tuberkelbacillen scheint die Corticalis ihre Fähigkeit, mit den mit Anilin etc. versetzten Farbstoffen Verbindungen einzugehen, allmählich zu verlieren (ebenso bei Heilung der Tuberkulose z. B. unter Behandlung der Tuberkulösen z. B. mit Arsenik oder nach Koch). Ihre Zusammensetzung ist wohl überhaupt je nach dem Alter des Tuberkelbacillus verschieden.[1])

Um die gefärbte Corticalis kann man mitunter, namentlich bei Untersuchung in schwächer lichtbrechenden Medien, wie Wasser, einen ziemlich stark lichtbrechenden, meist farblosen Hof oder Saum sehen, wie man ihn auch unter günstigen Verhältnissen ev. auch bei Milzbrandbacillen beobachten kann. Er entspricht wohl der „Kapsel" der Pneumoniebacillen. Bei aus dem menschlichen oder Tierkörper stammenden Tuberkelbacillen ist er oft sehr deutlich, während er bei Bacillen aus Reinkulturen meist nicht wahrnehmbar ist. (Ganz analog den Kapseln der Pneumoniebacillen — Friedländer.) Gar nicht selten kann man Tuberkelbacillen begegnen, welche in einer Richtung hintereinander liegen, durch gröfsere oder kleinere Zwischenräume voneinander getrennt sind, aber (wie man sich besonders deutlich überzeugen kann, wenn eine solche Bacillenkette, losgerissen, durch Strömungen in Bewegung gerät) untereinander durch eine ungefärbte, sie umgebende, glasige Zwischensubstanz zusammengehalten werden (Biedert und Sigel, Virch. Arch.). Die einzelnen Glieder der Bacillenkette erscheinen dann oft wie in einem Schlauche steckend.[2])

Es ist hier wohl am Platze, auf die verschiedenen Variationen im Aussehen der Tuberkelbacillen einzugehen. Was zunächst die Form und Gröfse der Einzelindividuen anbetrifft, so unterliegt sie (ganz abgesehen von den durch verschiedene Färbung und Färbungsintensität bedingten Differenzen) immerhin gewissen Schwankungen. Während die Gröfse des typischen Tuberkelbacillus die von Koch angegebenen Gröfsenverhältnisse ziemlich strenge innehält, treten unter gewissen Verhältnissen sowohl viel kürzere als auch längere Formen auf, die sich aber durch ihre spezifische Farbe-Reaktion etc.

---

dicker als die mit Violetten unter Anilin- resp. Karbolzusatz gefärbten Tuberkelbacillen. Je länger und intensiver die Färbung war, um so dicker erscheinen die Tuberkelbacillen und umgekehrt. Wahrscheinlich wird bei zu kurz gefärbten Tuberkelbacillen bei der Entfärbung die Corticalis wieder mehr oder weniger mit entfärbt.

[1]) Hammerschlag (Cbl. f. Kl. Medic. 1891 Nr. 1 ref. Cbl. f. Bakt. 1891 Nr. 8 p. 272) fand, dafs nach Extraktion der in Alkohol und Äther löslichen Substanzen (Fett, Lecithin und ein giftiger Körper) aus den Tuberkelbacillen dieselben der Form nach erhalten bleiben und auch noch die tinktoriellen Reaktionen zeigen. Diese Reste bestehen nach ihm aus einem mit Kalilauge ausziehbaren Eiweifskörper und Cellulose. Die Bakterienreste haben auch danach noch ihre Form bewahrt, vertragen aber jetzt nach der Kalilaugebehandlung ebensowenig wie der extrahierte Eiweifskörper die Säureentfärbung bei der Färbung nach Ehrlich. Hammerschlag meint daher, dafs das tinktorielle Verhalten der Tuberkelbacillen durch die gegenseitige Anordnung der Eiweifs- und Celluloseteilchen im Bakterienleibe bedingt sei.

[2]) Auch Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 14) sprach sich wegen des festen Zusammenklebens der Tuberkelbacillen in Reinkulturen für das Vorhandensein einer „Kittsubstanz" aus.

doch als Tuberkelbacillen dokumentieren. Die kurzen Formen findet man nicht selten z. B. in jungen Reinkulturen, auch bei akuten Einschmelzungsprozessen. Man geht also vielleicht nicht fehl in der Annahme, dafs diese Formverkürzung auf eine besonders rege Zellvermehrung des Tuberkelbacillus hinweise. Die langen Formen findet man dagegen häufiger in älteren Reinkulturen und auch in chronischen Prozessen, wie alten Kavernen etc. Diese verlängerten Formen deuten vielleicht darauf hin, dafs die Zellvermehrung der Tuberkelbacillen hier langsamer stattfindet, so dafs die einzelnen Individuen Zeit haben sich zu verlängern, ohne sich sofort wieder zu teilen. Übrigens findet man äufserst häufig, wenigstens im Sputum, sowohl ganz kurze, wie ganz lange Formen bunt durcheinander; doch herrscht mitunter die eine Art ganz bedeutend vor. Was die Gestalt der Einzelindividuen anbetrifft, so können dieselben ganz oder fast ganz geradlinig (Taf. Fig. 1), aber auch mehr oder weniger gekrümmt sein (Taf. Fig. 2). Besonders die kurzen Individuen zeigen oft ganz deutlich ausgeprägte Kommaformen. Dieselben können sich zu halbkreisförmigen, ω- oder S-Figuren zusammenlagern (Taf. Fig. 2). Die Einzelindividuen sind dabei meist deutlich voneinander abgesetzt, doch sind mitunter ihre Grenzen schwer erkennbar. Sehr selten finden sich beinahe spirillenähnliche oder spirochaetenartige Verbände, welche aus einer gröfseren Anzahl von Einzelindividuen bestehen (Taf. Fig. 3). Die Länge der längsten Bacillenkette, die ich gesehen habe, betrug (ohne Rücksicht auf die Biegungen) 11 μ.

Nicht selten macht es den Eindruck, als ob in einer solchen längeren Kette eines oder mehrere Glieder fehlten.[1]) Trotzdem liegen alle Glieder der Bacillenkette in einer Richtung und zeigen sich durch die oben erwähnte glasige Zwischensubstanz wie in einem Schlauche zusammengehalten.

Die oben geschilderten farblosen Lücken (Taf. Fig. 4), welche übrigens mitunter eine ziemlich beträchtliche Länge erreichen können, haben aber nichts zu thun mit gewissen von Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 22—23) beschriebenen, viel kleineren eiförmigen regelmäfsigen stark lichtbrechenden Stellen innerhalb des Bacillus, welche mitunter wie Fenster die gefärbte Bacillensubstanz durchsetzen (Taf. Fig. 5) und von ihm seinerzeit als Sporen gedeutet wurden. Er beschreibt dieselben, wie folgt:

„Unter Anwendung der stärksten Systeme und bedeutender Vergröfserungen läfst sich dann feststellen, dafs der sporenhaltige Tuberkelbacillus genau dasselbe Bild, wie die sporenhaltigen Milzbrandbacillen, nur in stark verkleinertem Mafsstabe wiedergibt. Die Sporen sind eiförmig, am Rande von einer feinen gefärbten Linie begrenzt und finden sich gewöhnlich in einer Anzahl von 2—6 in einem Bacillus. Da jede einzelne Spore ein Glied einnimmt, so läfst sich aus ihrer Zahl auf die Zahl der Glieder des Bacillus, d. h. der einzelnen Elemente, aus denen sich derselbe aufbaut, schliefsen. Wenn eine Substanz mit sporenhaltigen Tuberkelbacillen in ungefärbtem Zustande und in weniger stark lichtbrechenden Zusatzflüssigkeiten untersucht wird, dann erscheinen die Bacillen mit stark glänzenden Körperchen versehen; letztere können demnach nicht Vakuolen oder einfache

[1]) Eine Erscheinung, wie man sie auch bei anderen Bacillen, z. B. Milzbrandbacillen, beobachten kann.

Lücken im Protoplasma des Bacillus, sondern sie müssen echte Sporen sein." [1])

Flügge (Mikroorganismen p. 210) schreibt über die Tuberkelbacillensporen folgendes:

„Die Sporen nehmen bei der gewöhnlichen Behandlung des Präparates den Farbstoff nicht auf und der sporenhaltige Bacillus gleicht daher nach der Färbung einem dunklen, durch helle eiförmige Räume unterbrochenen Fädchen. Zuweilen macht es den Eindruck, als ob die Sporen seitlich über die Kontur des Bacillus hinausragen" (Taf. Fig. 6). Man vergleiche dazu seine Figg. 72 u. 73.

Beide Formen der „sporenhaltigen" Tuberkelbacillen, sowohl den Koch'schen „vakuolären" als den Flügge'schen „ampullären" Typus, habe ich mehrfach beobachtet, doch den letzteren im ganzen viel seltener. Unter günstigen Umständen und bei sehr klarem Untergrund tritt die ampulläre Form noch viel deutlicher zu Tage, wenn der Bacillus selbst schmäler wird. Ich habe dies einige Male in Präparaten von homogenisiertem und sedimentiertem Sputum gesehen (Taf. Fig. 7).

Ich kann hier eine sehr merkwürdige Gruppe von Erscheinungsformen des Tuberkelbacillus nicht ganz mit Stillschweigen übergehen, über deren Wesen und Bedeutung wir leider aber noch immer nichts Genaues wissen.

Färbt man ein Tuberkelbacillenpräparat sehr stark mit Karbol- oder Anilin-Fuchsin, so sieht man des öfteren nach der Entfärbung (in manchem Präparat sehr häufig), dafs in dem Leibe der Tuberkelbacillen gewisse Stellen von runder oder ovaler Gestalt dunkler gefärbt sind und die Kontur des Bacillus mehr oder weniger seitlich überragen. Ihre Gröfse ist verschieden. Doch sind die gröfsten untereinander gleich grofs. Sie liegen zu 1—6 in einem Tuberkelbacillus und dieser erhält dadurch ein gekörntes Aussehen. Die kleineren sind meist dunkler rot als die gröfseren, welche oft mehr den Eindruck einer rotgefärbten Blase machen und bei gewisser Einstellung einen grünlich strahlenden Schimmer zeigen. Diese Gebilde machen einen durchaus körperlichen Eindruck (Fig. 8—9).

Bei stärkerer Entfärbung verliert die Substanz des Tuberkelbacillus mehr und mehr ihre Farbe und es bleiben fast nur noch die rot gefärbten runden resp. ovalen Gebilde zurück. Die so entstehenden Formen nannten Biedert und Sigel (Virch. Arch. 1884 Bd. 98 p. 99) „Körnchenreihenbacillen" und schilderten sie als „eine meist genau die Form der idealen Stäbchen imitierende Aneinanderreihung kleiner runder rotgefärbter Körnchen". „Man mufs annehmen," folgern sie weiter, „und kann es mit stärkerer Vergröfserung auch sehen, dafs die Körnchen durch eine farblose Substanz zusammengebacken sind." Die Körnchen fanden sie zu 3—5 in einem Baci lus, aber auch Formen mit nur 2 Körnchen, ja einzelne Körner. Die Körnchen beschreiben sie als bald nahezu rund, bald oval. Oft liegen sehr lange und dicke „Körnchenreihenbacillen" zu zweien oder mehreren zusammengelagert. Diese bezeichnen sie dann als „Haufenbacillen". Durch Behandlung mit Anilinfuchsin stark gefärbter Tuberkelbacillenpräparate mit Natrium-

[1]) Baumgarten (Pathol. Mykologie II p. 539) bemerkt dazu: „Koch hat diese Stellen als endogene Sporen gedeutet. Es ist diese Deutung zwar in hchem Grade wahrscheinlich, aber doch noch nicht absolut sichergestellt, weil man die in Rede stehenden Gebilde bisher weder in freiem Zustande noch vollends im Keimungsakte begriffen beobachtet hat, und weil es auch noch nicht gelungen ist, denselben eine, der Sporenfärbung bei anderen Bacillen mit unzweifelhafter endogener Sporenbildung analoge, Tinktion beizubringen. Selbstverständlich sind das alles keine Gegengründe gegen Kochs Auffassung."

bisulfit vermochte Ehrlich (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 11 p. 159. Charité-Ann. 1886 Bd. XI p. 124) schliefslich den ganzen Bacillus bis auf gewisse „eiförmige Körper“, welche wohl mit den eben erwähnten identisch sind, vollkommen zu entfärben. Diese Körper sind dann von verschiedenen Seiten, z. B. von Metschnikoff (Virch. Arch. 113 p. 70), Nocard und Roux (Ann. de l'Institut Pasteur 1887 I. p. 28), Verf. (Mitt. a. Dr. Brehmer's Heilanstalt, Wiesbaden 1890 p. 155) des weiteren erwähnt und beschrieben worden. Ebenso wie mit Fuchsin rot, kann man sie auch bei starker Färbung mit Violetten nach Gram (Taf. Fig. 15) oder unter starker Entfärbung durch Säuren (Negri), rauchende Salpetersäure (Voltolini) durch die darin enthaltene, d. h. salpetrige Säure (Lutz), naszierendes Jod (Unna), naszierendes Brom (Amann) darstellen, wobei je nach dem Grade der Entfärbung die Substanz des Tuberkelbacillus selbst entweder noch gefärbt oder vollkommen entfärbt ist. Danach erhält man also entweder knotige Bacillen oder „Körnchenreihenbacillen“ oder schliefslich Haufen von Körnern. Es entstehen dadurch die sogenannten „Coccothrix“-bilder. Man nahm sogar fälschlich eine direkte Auflösung der Tuberkelbacillen in Coccen an. Diese merkwürdigen Gebilde sind natürlich keinesfalls Coccen.[1]) Ein Bacillus kann eben niemals in „Coccen“ zerfallen. Hervorzuheben ist, dafs auch durchaus nicht unter allen Umständen diese Coccothrixformen zur Wahrnehmung gebracht werden können. Sie finden sich häufig in älteren Reinkulturen und z. B. in Kavernenbröckeln aus alten Kavernen. Meist finden sich neben den „Coccothrixformen“ immer noch einige nicht veränderte, in ihrer typischen Gestalt erhaltene Tuberkelbacillen.

Das Gemeinsame, was allen Darstellungsmethoden dieser Gebilde zu Grunde liegt, ist, dafs in gewissen Tuberkelbacillen nach sehr intensiver Anfärbung Körper von bestimmten Eigenschaften auftreten, welche die Bacillenkonturen seitlich oft um 1—2 Bacillenbreiten überragen, und durch geeignete Entfärbungsmethoden isoliert gefärbt zu erhalten sind. Sie besitzen zunächst also eine gröfsere Resistenz gegen die **Entfärbung** als der Rest des Bacillus. Der Gedanke liegt nahe, zu vermuten, dafs sie vielleicht die Koch'schen Sporen in gefärbter Form darstellen. Dies ist allerdings auch von verschiedenen Seiten (Negri, Journ. de Micr:gr. Huitième Année Nr. 6 p. 349; Metschnikoff, Virch. Arch. 113 p. 70, Nocard und Roux, Ann. de l'Instit. Pasteur 1887 I p. 28) bereits geschehen.

Eine gewisse Stütze erhält diese Ansicht dadurch, dafs es gelingt, diese Körper in den Tuberkelbacillen mittels Doppelfärbungen sichtbar zu machen. Durch einen Zufall erhielt ich sie zuerst schwarzblau gefärbt in fuchsinroten Tuberkelbacillen, als ich mit Karbolfuchsin gefärbte und in Ebner'scher Flüssigkeit entfärbte Präparate aus älteren Tuberkelreinkulturen 10—15—20 Minuten in der Ehrlich'schen Lösung von Methylenblau in physiologischer Kochsalzlösung nachfärbte. Sie zeigten sich dabei äufserst scharf differenziert, meist je ein kugeliges bis ovales, scharf konturiertes Körperchen am Ende oder in der Mitte je eines Bacillus (Taf. Fig. 12) und die Konturen des Bacillus breit überragend. Seltener fanden sich 2 oder noch mehr Körperchen in einem Bacillus. Mit derselben Methode konnte ich sie auch in gewissen Sputen (namentlich aus Kavernen) nachweisen (Taf. Fig. 13), doch mufste ich hier, weil sonst die Grundfärbung zu dunkel wurde, eine nachträgliche zweite Entfärbung in schwach essigsäurehaltigem Wasser oder Alkohol folgen lassen. Da ich wegen der an-

[1]) Sie sind auch keinesfalls Kunstprodukte, sondern präformierte, aber durch die Färbung erst deutlich gemachte Gebilde, da man sie auch mit sehr schonenden Methoden darstellen kann.

scheinenden Körperlichkeit dieser Gebilde etc. den Gedanken nicht ganz abweisen konnte, dafs es sich ev. doch um gefärbte Sporen handeln möchte, wollte ich versuchen, diesen fraglichen Gebilden die übliche Sporenfärbung beizubringen. Ich färbte daher Präparate von älteren Tuberkelreinkulturen, welche, wie ich wufste, zahlreiche solche Körperchen enthielten, stundenlang in heifsem Karbolfuchsin resp. Anilinfuchsin an, entfärbte dann mit Natriumbisulfit (indem ich mich der älteren Ehrlich'schen Notiz erinnerte) resp. Ebner'scher Flüssigkeit und färbte nach mit Karbolmethylenblau (weil sich in gewöhnlichem Methylenblau Tuberkelbacillen bekanntlich nicht färben). In der That hatte ich auch die Freude, gleich im ersten Präparate die gesuchten Körperchen dunkelrot, glänzend, in blauen Tuberkelbacillen zu sehen (Taf. Fig. 14).[1]) Es ist damit also gelungen, durch eine etwas modifizierte Neifsersche Sporenfärbung in den Tuberkelbacillen isoliert färbbare Gebilde darzustellen. Nachträglich habe ich in dem Buche von Hérard, Cornil und Hanot (La phthisie pulmonaire, Paris 1888 p. 56) die Erwähnung gefunden, dafs es Babes (Cornil et Babes, Les Bactéries, 2e édit. 1886) bereits viel früher durch tagelanges Anfärben in Anilinfuchsin, starke Entfärbung und starke Nachfärbung mit Methylenblau gelungen ist, eine gleiche Doppelfärbung der Tuberkelbacillen zu erzielen.[2])

Nur die gröfsten dieser Gebilde wäre ich geneigt, allenfalls für echte Sporen anzusprechen. Die kleineren möchte ich höchstens für kernartige Vorstufen von Sporen im Ernst'schen Sinne ansprechen. In der That ist es Ernst (Ztschr. f. Hygiene V p. 473) gelungen, mit seiner Methode zur Darstellung kernartiger „sporogener" Körner im Zellleibe von Bakterien auch in den Tuberkelbacillen analoge Gebilde nachzuweisen. Die Tuberkelbacillen vertrugen danach noch eine leichte rote Nachfärbung mit Saffranin oder wässerigem Fuchsin (Taf. Fig. 10). Die gleichen Gebilde vermochte er mit Delafield's Hämatoxylin darzustellen (Taf. Fig. 11). Ich konnte seine Befunde durchaus bestätigen (Mitt. a. Dr. Brehmers Heilanstalt 1890 p. 155—156). Doch sind diese kernartigen Körper viel kleiner und lange nicht so deutlich wie die von mir schwarzblau gefärbten Gebilde, welche zudem sehr deutlich den Bacillus um das doppelte bis dreifache seitlich überragen. Dafs die gröfseren Körper aber wirklich echte Sporen sind, wird man erst dann behaupten können, wenn es gelingen sollte, nachzuweisen, dafs ihnen nicht blofs die schon erwiesene erhöhte Resistenz gegen Entfärbung, sondern auch gegen Austrocknung und Desinfizientien zukommt, mit einem Wort, wenn ihr Charakter als Dauerformen sichergestellt werden kann. Bis dahin wird die Frage nach ihrer Natur wohl noch eine offene bleiben müssen.[3])

---

[1]) An der Realität der erhaltenen Bilder ist absolut nicht zu zweifeln. Ich habe Gelegenheit gehabt, die Präparate vielfach demonstrieren zu können, und haben alle Untersucher meinen Befund bestätigt.

[2]) Wie es scheint, hat diese Angabe in Deutschland keinen Eingang gefunden. Die Abbildungen, welche Hérard, Cornil und Hanot von diesen doppelt gefärbten Präparaten geben, stimmen auffallend mit den von mir beobachteten Bildern überein. Übrigens will ich bemerken, dafs es mir dann auch gelungen ist, nach demselben Prinzip durch starke Vorfärbung in Anilinfuchsin resp. Anilingentiana, Entfärbung und Nachfärbung in Anilingentiana resp. Anilinfuchsin diese Körper rot in violetten resp. violett in roten Tuberkelbacillen zu färben.

[3]) Gegen die Annahme von Involutionsformen spricht der Umstand, dafs die Körper 1) eine meist sehr regelmäfsige Gestalt*) und starkes Lichtbrechungsvermögen besitzen, 2) erhöhte Resistenz gegen Entfärbung bei sehr schwieriger Anfärbung zeigen und sich daher 3) durch Doppelfärbungen darstellen lassen.

---

*) Allerdings habe ich mich bei Anwendung von Zeifs' apochrom. Ölim. 2 mm Kompens. oc. VIII überzeugt, dafs neben den regelmäfsigen eiförmigen oder rundlichen Körpern bei der oben erwähnten modifizierten Sporenfärbung auch vielfach unregelmäfsige, fast eckige Körper vorkommen. Doch ist hier freilich auch die Behandlung recht eingreifend gewesen.

Ich wende mich jetzt zur Besprechung der sogenannten Degenerationsformen des Tuberkelbacillus. Als Involutionsformen der Tuberkelbacillen sind gewisse Tuberkelbacillen aufgefafst worden, welche, zumal am Ende, kolbige oder keulenartige Anschwellungen zeigen (Taf. Fig. 16). Da man nach meiner Methode diese letzteren Anschwellungen isoliert in einer andern Farbe darstellen kann, so möchte ich glauben, dafs es sich auch in diesem Falle wieder nur um die vorher diskutierten „Coccothrixformen“ handelt, bei denen die Bacillensubstanz aber noch sehr mächtig und selbst sehr stark gefärbt ist, so dafs sie die einzelnen runden oder eiförmigen Körper maskiert. Etwas anderes ist es mit jenen Formen, bei denen der Bacillus in kurze, hintereinander liegende Bröckel zerfällt, wie das in seiner ersten Andeutung Taf. Fig. 17 und in ausgesprochenem Mafse Fig. 18 zeigt. Dabei sind diese Bacillenreste meist sehr schmal. Diese würde auch ich für Degenerationsformen ansprechen.[1])

Was die Lagerung und Anordnung der Tuberkelbacillen im Sputum betrifft, so liegen dieselben entweder regellos zerstreut (Taf. Fig. 19) oder in bestimmten Gruppierungen. Der erstere Fall findet sich meist bei akuten Einschmelzungsprozessen, wobei die Zellen schon zerstört und nur noch Kernreste vorhanden sind. Sehr häufig liegen aber die Tuberkelbacillen in eigentümlichen, für sie geradezu typischen Gruppierungen. So findet man sie entweder winkelig mit den Enden aufeinander aufgesetzt oder paarweise parallel oder in kleinen Häufchen, welche dann eine besondere Brillanz der Färbung zeigen (Taf. Fig. 20). Viel seltener findet man die Tuberkelbacillen nicht frei, sondern in Zellen, und zwar entweder in Leukocyten (die sich schon durch die dunkle Kernfärbung vor den anderen Zellen markieren) (Taf. Fig. 21) oder in gröfseren Epithelzellen (wohl gröfstenteils Alveolarepithelien) (Taf. Fig. 22) in wechselnder Zahl eingeschlossen. Mitunter macht es den Eindruck, als ob eine geplatzte Zelle ihren Inhalt von Tuberkelbacillen entleert (Taf. Fig. 23). Selten habe ich (in gewissen Präparaten dann aber auch sehr zahlreich) Tuberkelbacillen in gewissen glasigen Schollen eingeschlossen gefunden, welche mitunter noch einen leicht rosigen oder gelblichen Ton bewahrt haben. Ob diese Schollen als Degenerationsprodukt von Zellen oder der Tuberkelbacillen selbst (Metschnikoffs „gelbe Degradation“) aufzufassen sind, mufs dahingestellt bleiben. Selten findet man in Sputumpräparaten ganze grofse Klumpen, die sich als nur aus Tuberkelbacillen bestehend erweisen. Unter ganz besonders günstigen Umständen kann man auch die Tuberkelbacillen genau in derselben schlangenartigen Anordnung wie in Reinkulturen angeordnet erhalten, vor allem wenn man das Präparat sehr vorsichtig ausstrich. Beim Menschen habe ich dies Bild im Sputumpräparat nur ein einziges Mal erhalten (Taf. Fig. 26). Ein ganz vorzügliches Beispiel dieser Art zeigten aber Präparate aus dem Inhalt einer experimentell erzeugten Kaverne vom Meerschweinchen (Taf. Fig. 25).

---

[1]) Es ist entschieden nicht richtig, dafs sie charakteristisch für die nach Koch behandelten Fälle sind, wie mehrfach behauptet wird. Sie finden sich überall, wo Tuberkelbacillen im menschlichen oder im Tierkörper zu Grunde gehen. Ich habe sie sehr häufig bereits vor der Koch'schen Behandlung in den Sputen von unseren Patienten gesehen. In den nach Koch behandelten Fällen fanden sie sich häufig auch, aber meist neben typischen Exemplaren von Tuberkelbacillen.

b) Zellige Elemente.

Die Hauptmasse des ganzen Präparates besteht aus den zelligen Elementen des untersuchten Sputums, und durch sie vornehmlich erhält das mikroskopische Bild des Sputumpräparates zumeist seinen Charakter. Sie können in gröfserer oder geringerer Zahl vorhanden sein. Zwar wird es dabei auch viel auf die Dicke der Präparatenschicht ankommen. Wenn man aber, wie Koch verlangt, die Präparatenschicht so dünn macht, dafs die zelligen Elemente sämtlich in eine Ebene zu liegen kommen, werden die Unterschiede in der Häufigkeit der zelligen Elemente um so deutlicher ins Auge fallen. Besonders bei einiger Übung wird man eine gewisse Sicherheit in dem Urteil über Reichtum oder Armut an zelligen Elementen unschwer erlangen können. Diese zelligen Elemente sind nun entweder wohl erhalten, zeigen scharfe Konturen und gute Kernfärbung, oder sie sind mehr oder weniger degeneriert, ihre Konturen sind verwischt, ihre Kerne schlecht färbbar, und diese lassen sich beim Anfertigen des Präparates zu langen kometenschweifartigen Figuren ausstreichen. Eine derartige Degeneration und Auflösung der Zellen findet entweder bereits in vivo statt, z. B. bei gewissen akuten Einschmelzungsprozessen etc., oder sie ist nachträglich beim Stehen des Sputums durch Quellung etc. resp. Fäulnis bewirkt. Es mufs daher immer wieder und wieder betont werden, dafs man die Sputa stets so frisch wie möglich untersuchen soll.

Von den im Auswurf anzutreffenden zelligen Elementen sind in erster Linie zu nennen die Epithelien. Sie treten auf entweder als Pflasterepithelien oder Cylinderepithelien, ohne oder mit Flimmerbesatz (welcher im gefärbten Präparate meist vollkommen verloren ist).

Was die Pflasterepithelien anbetrifft, so stammen sie entweder aus dem Anfang des Digestions- oder aus dem Respirationstrakt. Pflasterepithel findet sich erstens in der ganzen Mundhöhle, auf Zunge, Tonsillen, Speicheldrüsen, auf den wahren Stimmbändern, in Kehlkopf-, gröfseren Trachealdrüsen, in den Drüschen der Bronchialschleimhaut und als Auskleidung der Lungenalveolen.

Da aber manche Übergangsformen vorkommen, so läfst sich aus Gröfse und Aussehen einer Epithelzelle im Sputum doch mitunter sehr schwer ein sicherer Schlufs auf ihren Ursprung ziehen. Sehr leicht zu erkennen sind die sehr charakteristischen grofsen polygonalen Pflasterepithelzellen der Mundhöhle. Sie sind die allergröfsten (0,05—0,15‴ Biermer). Je jünger sie sind, um so dicker sind sie, um so gröfser und schärfer färbbar ihre Kerne. Mit zunehmendem Alter verhornen sie, werden immer platter, wobei ihr Protoplasma schwindet, während die Kerne kleiner werden und an Färbbarkeit verlieren. Diese älteren Pflasterepithelzellen der Mundhöhle entfärben sich oft schlecht und behalten dann bei Karbolfuchsin-Methylenblaufärbung immer noch einen mehr oder weniger starken rosigen Ton, während der Kern schwächer oder stärker blau gefärbt ist. Die jüngeren Formen dagegen zeigen dunkler blauen Kern, mitunter mit deutlichem Kernkörperchen, in ganz blafsblauem Protoplasma. Besonders die älteren Exemplare sind meist dicht umlagert von Zoogloeen von Mikrococcen, Leptothrixfäden oder Streptococcenketten. Diese Pflasterepithelform, welche naturgemäfs, wegen ihres Ursprungs, fast jedem Sputum mehr oder weniger reichlich beigemischt ist, im

Pflasterepithel der Mundhöhle.

Morgensputum z. B. sehr häufig, kann in reinen Lungensputis, welche hustend entleert werden, ganz oder doch fast gänzlich fehlen.

Alveolar-epithelien

Sehr häufig in aus der Lunge stammenden Sputis findet man die sogenannten Alveolarepithelien. Es sind dies viel kleinere Formen (0,005—0,0084‴ Diam. Biermer) von fast genau runder Gestalt, grofsem bläschenförmigen Kern, der aber oft Einschnürungen und auch Kernkörperchen zeigt. Mitunter findet man statt des einen Kerns wohl auch 2 oder ausnahmsweise 3 dafür kleinere Kerne an. Bei Entzündungsvorgängen der Lunge nehmen diese Zellen oft eine Kugelform an. Man hat geglaubt, diese Erscheinung auf endosmotische Vorgänge zurückführen zu sollen. Sicher ist aber auch, dafs man in solchen Zellen (bei geeigneter Behandlung auf Schnitten) Kernteilungsfiguren nachweisen kann. Mindestens ein Teil dieser kugeligen vergröfserten Alveolarepithelien ist also wohl als jugendliche durch rege Zellteilung bedingte Formen aufzufassen. Ihr Protoplasma ist dementsprechend verhältnismäfsig reichlicher und stärker granuliert. Häufig enthalten die Alveolarepithelien Pigment, und zwar entweder inhaliertes anorganisches, z. B. Kohle, Staubteilchen (daher sogen. „Staubzellen“) etc., oder organisches durch Umwandlung von Blutfarbstoff entstandenes (häufig nach Blutungen). Die Zellen sind durch das Pigment mehr oder weniger rostfarben oder dunkel, oft fast schwarz. Bei der Rückbildung verfallen die Alveolarepithelien entweder der fettigen Degeneration — es bildet sich eine Fettkörnchenzelle, die schliefslich in einen formlosen Detritus zerfällt — oder der Myelinentartung. Letztere ist ein noch nicht genügend aufgeklärter Prozefs. Die degenerierten Zellen enthalten dann gröfsere oder kleinere mattglänzende sogen. „Myelinkörnchen“.

Buhl hatte das Auftreten der geschilderten Alveolarepithelien als charakteristisch für seine „Desquamativpneumonie“ behauptet. Sie kommen aber auch sonst ganz gewöhnlich vor. Bei Alveolitis tuberculosa enthalten sie oft einen oder mehrere Tuberkelbacillen; mitunter sind sie förmlich vollgestopft damit.

Drüsen-epithelien.

Weniger auffällig als diese Alveolarepithelien sind die etwas gröfseren Drüsenepithelien (0,009—0,011‴ Diam. Biermer).

Cylinder-epithelien.

Viel seltener als die Plattenepithelien findet man im Sputum Cylinderepithelien. Sie stammen entweder aus dem Respirationstrakt von Kehlkopf (mit Ausnahme der wahren Stimmbänder an) bis zu den feinsten Bronchialen oder aus der Nasenhöhle, resp. von der Hinterfläche des Velum palatinum. Die Cylinderepithelien gehören entweder dem einfachen oder Flimmerepithel zu. Unter günstigen Umständen kann man im frischen Zustande noch lebhafte Flimmerbewegung konstatieren, die, wenn erloschen, durch vorsichtigen Zusatz sehr verdünnter Alkalien mitunter wieder belebt werden kann.

Eiter-körperchen.

Sehr häufig finden sich in den Sputis und zwar besonders bei chronischen Prozessen der Bronchien und der Alveolen Eiterkörperchen im Sputum. Sie sind rund, $\frac{1}{4}-\frac{1}{2}$ so grofs wie Alveolarepithelien; ihr Protoplasma ist mehr oder minder deutlich granuliert. Sie zeigen 1—4 oft gelappte Kerne, welche im Gegensatz zu den meist nicht besonders stark färbbaren Kernen der Alveolarepithelien durch kernfärbende Mittel meist sehr stark tingiert werden. Auch sie enthalten nicht gar so selten ein bis mehrere Tuberkelbacillen. Bei der Degeneration fallen die Eiterkörperchen der fettigen

Metamorphose anheim und zerfallen schliefslich zu Detritus. Sie sind als ausgewanderte weifse Blutkörperchen aufzufassen

Die Schleim- oder Speichelkörperchen, welche einen oder zwei rundliche Kerne besitzen, sind im gefärbten Präparat meist nicht zu diagnostizieren. Bei Blutungen kann man auch rote Blutkörperchen in gröfserer oder geringerer Zahl antreffen. Im gefärbten Präparat sieht man sie meist nicht, weil das Hämaglobin ausgezogen ist, so dafs nur die farblosen Stromata zurückbleiben.

Auf einen Befund will ich noch kurz hinweisen. Nicht sehr häufig, aber in gewissen Sputen auch wieder in ganz erstaunlichen Mengen habe ich gewisse Schollen von oft sehr unregelmäfsiger Gestalt und wechselnder Gröfse angetroffen. Sie zeigen einen matten, fast möchte ich sagen wachsigen oder fettigen Glanz und oft Formen, deren Konturen an „muscheligen Bruch“ erinnern. Bei der Tuberkelbacillenfärbung mit Karbolfuchsin und Methylenblau behalten sie mitunter eine leicht rosige oder gelbliche Färbung. Sie liegen entweder frei oder in Alveolarepithelien. Was mir aber sehr bemerkenswert erscheint, ist der Umstand, dafs ich im Innern dieser scholligen Körper mitunter ganz deutlich einzelne, aber mitunter auch ganze Haufen von freilich schlecht gefärbten Tuberkelbacillen gesehen habe (cf. Taf. Fig. 24). Ich möchte glauben, dafs diese scholligen Körper identisch sind mit jenen Gebilden, welche man wegen ihrer äufserlichen Ähnlichkeit mit austretenden Myelintropfen „Myelinkörner“ genannt hat. Sie sind sehr resistent gegen Säuren, zeigen dabei kein Aufbrausen, dürften also nicht aus Kalk bestehen. In welchem Verhältnis sie zu den „Myelinkörnern“ und den von Wyssokowicz (Mitt. a. Dr. Brehmer's Heilanstalt. Neue Folge 1890 p. 28 u. f.) beobachteten hyalinen Körpern aus Riesenzellen stehen, mufs weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Vielleicht gehört die von Metschnikoff (Virch. Arch. 113 p. 79—80) beschriebene „gelbe Degradation“ der Tuberkelbacillen auch in dieses Gebiet. Erwähnen will ich noch, dafs ich diese Körper immer nur bei sehr chronisch verlaufenden Fällen fand, dann aber oft sehr reichlich. Schollen.

c) Fremde Mikrobien.

Neben den Tuberkelbacillen und Epithelzellen finden sich als geformte Elemente des Sputums stets noch fremde Mikrobien in gröfserer oder geringerer Zahl. Oft scheint das Präparat überhaupt fast nur aus diesen fremden Mikrobien zu bestehen, so vornehmlich, wenn das Sputum bereits längere Zeit gestanden hatte. Es gibt aber auch gewisse Sputa, die gleich bei der Entleerung enorme Mengen von solchen fremden accidentellen Bakterien enthalten. Es ist ja zur Genüge bekannt, dafs im Mundspeichel auch gesunder Menschen stets sehr zahlreiche Bakterien vorhanden sind. Wenn nun aber aus der Lunge plötzlich solche grofse Mengen von fremden Bakterien entleert werden, so kann das unmöglich unbedenklich sein, denn es deutet auf eine Vermehrung dieser Bakterien in der Lunge, die eben normalerweise nicht statthat und auch nicht statthaben darf. Schon Koch (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 33) wies auf solche Kombinationen der Phthise hin und empfahl ihnen besondere Aufmerksamkeit zu schenken. Es sind dann in der Folge verschiedene Arbeiten über diesen Gegenstand veröffentlicht, u. a. von Gaffky (Langenbeck's

Archiv Bd. XXVIII Hft. 3), Babés („Sur les associations bactériennes de la tuberculose" Congrès pour l'étude de la Tuberculose, Paris 1889, 1re Session). Evans (Virch. Arch. Bd. CXV 1889 Hft. 1), aber, wie mir scheint, doch noch nicht in genügendem Umfange. Während man anfangs diese fremden Bakterien für mehr nebensächliche Beimengungen ansah, hat man neuerdings ihnen mehr und mehr Beachtung zu schenken begonnen. Ich glaube nicht fehlzugehen, wenn ich annehme, dafs sie es sind, welche hauptsächlich durch ihre interkurrente Mitbeteiligung das so vielgestaltige Bild der Lungentuberkulose erzeugen helfen und dafs sie überhaupt von der gröfsten Bedeutung für den Verlauf und die Prognose der Phthise sind.

Zunächst hat man auf die Zahl dieser fremden Mikrobien zu achten, sodann auf die auftretenden Formen resp. Arten. Was den letzteren Punkt anbetrifft, so darf man sich nicht grofsen Illusionen hingeben. Aus dem mikroskopischen Bilde allein, ohne Zuhilfenahme des Kulturverfahrens, kann man keine sichere Diagnose auf einen bestimmten Mikroorganismus stellen. Was die auftretenden Formen der Mikrobien anlangt, so sind sie sehr mannigfaltig: wir finden Coccen, Bakterien, Bacillen, Vibrionen, Spirillen und Spirochaeten in buntestem Wechsel der Formengestaltung und Anordnung. Als Coccen bezeichnet man die einfachsten Formen von Mikrobien, deren Durchmesser untereinander alle gleich grofs sind. Nur bei der Teilung kann sich die Einzelzelle zunächst in einem Durchmesser etwas verlängern, dann trennt sie sich durch Einschnürung in zwei neue Individuen, die dann zunächst nur durch einen feinen Spalt („Teilungslinie") geschieden erscheinen. Die Gröfse der Coccen ist grofsen Schwankungen je nach der Art unterworfen, doch zeigen sich häufig auch individuelle Schwankungen in den Gröfsenverhältnissen. Die Coccen treten auf, einzeln oder immer paarweise angeordnet (Diplococcen), mit oder ohne eine hofartige „Kapsel" (Kapselcoccen) oder in langen Ketten (Streptococcen, Torulaform), in denen auch meist je zwei Coccen untereinander paarweise angeordnet sind (so sehr häufig im Mundspeichel, aber auch in Sputen, welche aus den Lungen stammen). Nicht selten finden sich die Coccen zu vieren als sogen. Tetraden, so z. B. beim Microc. tetragenus (cf. Fig. 30). Häufig auch liegen die Coccen in Würfel- oder in „Waarenballen-" Form angeordnet. Diese letzteren Formationen fafst man unter dem Namen Sarcine zusammen. Häufig sind aber die Coccen viel weniger regelmäfsig in traubenförmigen Haufen zusammengelagert (Staphylo-coccen); mitunter sind solche oder noch unregelmäfsigere Haufen von einer mehr oder weniger dicken glasigen Schleimhülle umgeben, in die sie eingebettet sind. Man bezeichnet diese Konglomerate dann als Zooglöen (cf. Fig. 27). Die stäbchenförmigen Formen zeigen alle Übergänge von dem ganz kurzen Bakterium, bei dem kaum der eine Durchmesser an Länge überwiegt, bis zu den ganz langen sogenannten Leptothrixformen.[1]) Dies sind lange starre unbewegliche Fäden ohne wahrnehmbare Gliederung, die jedoch durch

[1]) Man darf nie vergessen, dafs „Leptothrix" keine Art, sondern nur ein Formbegriff ist. Diese Formen haben die gemeinsame Eigenschaft, dafs ihr Plasma durch Jod bei (von Natur oder durch Zusatz von Salzsäure, Milchsäure oder Essigsäure erzeugter) **saurer** Reaktion des Suspensionsmittels blau bis schwarzviolett gefärbt wird (Granulosereaktion).

Behandlung mit gewissen Agentien mitunter nachweisbar wird. Sie finden sich sehr häufig im Mund- und Zahnbelag, oft in dichten verfilzten Bündeln, in den Krypten der Tonsillen, im Pharynx, aber auch in den Lungen (Leyden und Jaffé) und sind danach z. B. als Leptothrix buccalis resp. pulmonalis beschrieben. Die Mittelformen zwischen den kurzen Bakterien und den langen Leptothrixformen bezeichnet man meist als Bacillen. Auch sie zeigen sehr grofse Schwankungen in Gröfse und Breite, liegen einzeln, oder in Ketten (Torula), oder auch wie Coccen und Bakterien, aber viel seltener in zooglöenartigen Anordnungen. Die gekrümmten Stäbchenformen, welche teils als Kommaformen (Vibrionen) oder Spirillen resp. Spirochäten auftreten, finden sich fast nur im Mundspeichel, Hefe, Oidiumarten. Auch nur Fadenpilze sind mitunter im Auswurf zu finden. Bei Actinomycose spec. der Lungen hat man mehrfach Actinomycesdrusen im Sputum nachgewiesen. Es ist hier nicht der Ort, auf diese Befunde näher einzugehen. Eines will ich jedoch von nenem betonen, dafs man ohne Reinkultur resp. Tierexperiment, allein aus dem mikroskopischen Bilde keine sichere Diagnose auf einen bestimmten Mikroorganismus stellen kann. — Mittels der modernen Kulturmethoden ist bereits eine ganz beträchtliche Zahl von Mikrobien aus dem Sputum isoliert und in Reinkulturen und durch das Tierexperiment studiert; ich erinnere hier nur an den Microc. tetragenus, Pneumoniebacillus Friedländer, Pneumonie-coccus (?) Fränkel-Weichselbaum etc.

Erst neuerdings hat sich Sergio Pansini (Virch. Arch. 122 Hft. 3) von neuem mit dieser Frage beschäftigt. Es ist sehr leicht, eine grofse Zahl von Mikrobienarten aus dem Sputum zu isolieren; es ist aber mitunter sehr schwer, die gezüchteten Mikrobien zu bestimmen. Auch sind unsere Methoden hierin entschieden noch unzulänglich, wie wir schon an der verhältnismäfsig äufserst geringen Zahl von Kolonieen auf Sputumplatten bemerken müssen, die wir erhalten, trotzdem in der Aussaat Millionen von Keimen vorhanden waren. Entweder sind unsere bisherigen Nährböden ungeeignet oder die Versuchsanordnung ist dazu noch ungenügend. Ein grofser Teil der fraglichen Mikrobien ist wahrscheinlich auf ein anaerobiotisches Wachstum angewiesen und war daher mit den für aerobiotische Bakterien angepafsten Methoden nicht zu isolieren.

Eines gelegentlichen Befundes möchte ich hier noch kurz Erwähnung thun. In einem Sputum von einer sehr chronisch verlaufenden Phthise bemerkte ich unlängst eigentümliche eiförmige resp. mitunter mehr leicht nierenförmige Gebilde. Dieselben waren gelbbraun, stark glänzend, doppelt konturiert. In ihrem Innern bemerkte man 2—4 vakuolenartige Körper. Ich habe versucht, diese Gebilde in ihrem Aussehen und ihren Gröfsenverhältnissen zu den Tuberkelbacillen (ca. 5 : 3,5 Tstr. des Okularmikro-meters 0,0085 : 0,0059 mm bei Leitz $^{1}/_{12}$ Ok. 3 u. Tubusl. 160 mm) in Fig. 31 möglichst genau wiederzugeben. Ihrem Aussehen nach erinnerten mich dieselben am meisten an Psorospermien, doch ist aufser einer Angabe von Bälz über Gregarinosis pulmonalis (auf die ich durch Kaatzer's Angaben [das Sputum p. 53] geführt wurde, die ich aber im Original nicht auffinden konnte) meines Wissens über das Vorkommen von Psorospermien im Sputum nichts bekannt. Ev. könnte es sich um Parasiteneier handeln?

In einem gelungenen Präparate sollen nur die Tuberkelbacillen in der primären Farbe gefärbt sein, alle übrigen Bestandteile müssen die Gegenfarbe angenommen haben. Eine Ausnahme machen, indem

auch sie die primäre Farbe oft ungemein hartnäckig festhalten, folgende Gebilde:

1. verhornte Epithelien (zeigen die Tuberkelfarbe aber meist nur ganz blafs);

2. Sporen von gewissen Spaltpilzen, Hefen und Schimmelpilzen (Gaffky, Mitt. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt II p. 12), (Mucorineen Petri, [Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739]);

3. Mastzellenkörner (sie verhalten sich nach Orth [Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 28 p. 422] gegen einfache und Doppelfärbung [Tuberkelbacillenfärbung] bei Anwendung des salzsauren Alkohols genau wie die Tuberkelbacillen, während die Kerne der Mastzellen dagegen das gewöhnliche Verhalten zeigen. Man erhält also die Tuberkelbacillen und Körnchen rot, Kerne blau und grün [bei Fuchsinfärbung und Methylenblau- resp. Malachitgrünnachfärbung] oder Tuberkelbacillen und Körnchen blau oder violett und Kerne rot [bei Gentiana- resp. Methylviolett-Tuberkelbacillenvorfärbung und Karmingrundfärbung]. Wendet man statt des salzsauren Alkohols ganz kurze Zeit verdünnte Salpetersäure an, so erhält man das gleiche Verhalten. Durch stärkere Salpetersäure wird dagegen die Körnchenfärbung vernichtet, während die Tuberkelbacillen noch gefärbt sind);

4. Leprabacillen (zwischen ihnen und den Tuberkelbacillen existieren hinsichtlich der Färbung nicht spezifische, sondern nur graduelle Differenzen). Sie färben sich leichter, schon in wässerigen Lösungen von Anilinfarben als die Tuberkelbacillen, sollen sich dagegen in Salpetersäure (Babés, Comptes rend. T. 96 p. 1246) und 1 % Lösung von unterchlorigs. Natron (Lustgarten, Die Syphilisbacillen. Sep.-Abdr. a. d. med. Jahrbüch. d. K. K. Gesellsch. d. Ärzte z. Wien 1883 p. 6) schwerer entfärben als die Tuberkelbacillen;

5. die von Maffucci aufgestellten und von Koch bestätigten Bacillen der Hühnertuberculose, welche eine eigene Art zu sein scheinen und sich vorläufig nur durch die Kultur und das Tierexperiment unterscheiden lassen;

6. Smegmabacillen resp. Bacillen von fettreichen Nährmedien, wie Smegma, Cerumen, bei Acne etc. Sie werden bei der Alkoholnachbehandlung ungemein leicht entfärbt. Gottstein (Die Verwertung der Bakteriologie etc. Berlin 1887 p. 25) rät „Präparate von Orten, an denen man Gefahr läuft, Fettbacillen zu finden, vor der Färbung mit 5 % Kalilaugenalkohol“ zu kochen. Vorherige Behandlung mit Äther oder Chloroform genüge nicht;

7. Fettkrystalle zeigen erstens wechselnde Gröfsen und Dickenverhältnisse. Sie lösen sich aber bei Zusatz von Chloroform oder Äther oder bei Kochen mit kalilaugenhaltigem Alkohol vor der Färbung auf, während sich Tuberkelbacillen nach gleicher Behandlung noch färben lassen (Gottstein, Fortschr. d. Med. Bd. IV p. 254). (Doch wird man nach den neuesten Erfahrungen [s. o.] mit Behandlung der Präparate mittels Kalilauge vorsichtig sein müssen, da dadurch auch die Tuberkelbacillenfärbung geschädigt werden dürfte.)[1]

Aufser den genannten Gebilden behalten oft auch die dickeren Stellen des Präparates die primäre Tuberkelbacillenfarbe (selbst bei Säureentfärbung) als Beweis dafür, dafs auch die mechanischen Momente für das Zustandekommen wie der Färbung so auch der

[1]) Nach Hunt (New York Medic. Record März 1883) polarisieren Fettsäurekrystalle das Licht, Tuberkelbacillen jedoch nicht.

Entfärbung eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen. Auch verbrannte Stellen halten den primären Farbstoff vielfach recht hartnäckig fest.

KAPITEL V.

Die Schlufsfolgerungen aus dem Präparat.

Wir haben jetzt noch über die Verwertung des fertigen Präparates für die Diagnose und Prognose des Falles zu sprechen. Man hat sich namentlich in letzterer Hinsicht oft viel zu weitgehenden Hoffnungen hingegeben, und es ist daher wohl am Platze, diese Hoffnungen auf ihr richtiges Mafs zurückzuführen.

Vor allem interessiert natürlich zuerst der Umstand, ob Tuberkelbacillen in dem untersuchten Präparate resp. bei wiederholten Untersuchungen überhaupt nachweisbar sind oder nicht. Werden Tuberkelbacillen gefunden, so ist damit der unumstöfsliche Beweis geliefert, dafs wenigstens **ein** tuberkulöser Ulcerationsprozefs, sei es in den Alveolen, Bronchien oder sonst im Respirationstrakt vorliegt.[1]) Doch hüte man sich wohl, irgend ein zweifelhaftes, vor allem vereinzeltes, in der Tuberkelbacillenfarbe gefärbtes stäbchenförmiges Gebilde ohne weiteres für einen Tuberkelbacillus anzusprechen. Das fragliche Gebilde mufs aufserdem noch nach Gröfse, Form und Lagerung mit den Charakteren des Tuberkelbacillus resp. seiner kleinen bekannten Formvariationen wohl übereinstimmen. Die Gefahr liegt für den Anfänger in derartigen Untersuchungen mehr in der Richtung, dafs er Dinge für Tuberkelbacillen hält, die es nicht sind, als dafs er vorhandene gefärbte wirkliche Tuberkelbacillen übersieht, obwohl auch der letztere Fall, namentlich bei Verwendung zu schwacher Vergröfserungen, natürlich durchaus nicht ausgeschlossen ist.

Selbstverständlich ist, wenn die Sputumuntersuchung erweisen soll, ob überhaupt Tuberkulose besteht, nur ein **positiver** Befund von Tuberkelbacillen von Wert; da ein negativer noch nicht gewährleistet, dafs nicht etwa nur vorhandene Tuberkelbacillen wegen fehlerhaften Methoden etc. nicht zur Anschauung gebracht wurden, oder dafs nicht trotzdem jüngere oder ältere tuberkulöse Herde im Respirationstrakt bestehen, welche nur noch nicht oder nicht mehr Tuberkelbacillen nach aufsen entleeren.[2]) Um die Fehler-

[1]) „Wo wir (Tuberkel-) Bacillen im Sputum finden, da ist ein bacillärer Destruktionsprozefs in den Respirationsorganen vorhanden.“ (B. Fränkel, Berl. Klin. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 216.) Die von Ziehl (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 5 p. 63) anfangs ausgesprochene Vermutung, dafs sich die Tuberkelbacillen vielleicht auch einmal als zufälliger Befund, ohne dafs eine klinisch- oder pathologisch-anatomisch nachweisbare Tuberkulose vorhanden wäre, im Sputum finden könnten, hat sich nicht bestätigt. Wo sich Tuberkelbacillen im Auswurf finden, kann man, wenn auch nicht immer klinisch, so doch wenigstens ev. bei der Sektion nachträglich pathologisch-anatomisch einen oder mehrere tuberkulöse Herde nachweisen.

[2]) „Wo im Auswurf von Lungenkranken trotz wiederholter und genauer

quellen auszuschliefsen, mufs man also die Methoden zum Nachweis so sicher wie möglich zu machen suchen (wozu eben die genaueste Kenntnis aller möglichen Fehlerquellen erforderlich ist). Was den zweiten Fall, die occulten Herde anbetrifft, so haben sich mehrfach die Koch'schen Injektionen als hilfreich erwiesen, indem in mehreren Fällen, bei denen früher stets vergeblich nach Tuberkelbacillen gesucht wurde, nach den Injektionen Tuberkelbacillen, wenn auch mitunter sehr spärlich, nachweisbar wurden. Den positiven Nachweis der Tuberkelbacillen im Sputum hat man zur Stellung der Differentialdiagnose z. B. zwischen Lungentuberkulose und Lungensyphilis verwertet (Lichtheim, Fortschr. d. Medic. I p. 4). Den negativen Nachweis der Tuberkelbacillen hat Ehrlich für die Differentialdiagnose zur Erkennung perforierter Empyeme und Lichtheim zur Diagnose bronchiektatischer Herde (im Gegensatz zu Kavernen) herangezogen. Ich halte dies Vorgehen für vollkommen berechtigt, wenn man sich nur dabei stets bewufst bleibt, dafs neben diesen Erkrankungen, deren Symptome das Krankheitsbild dominieren, trotz des sogar fortgesetzt negativ bleibenden Befundes von Tuberkelbacillen sich die Anwesenheit von occulten tuberkulösen Herden doch immer noch nicht ausschliefsen läfst.

Man hat sich nun vielfach auch bemüht, aus dem Befunde der mikroskopischen Präparate Anhaltspunkte für die Schwere des Falls und das Fortschreiten, resp. Stillstehen des tuberkulösen Prozesses zu gewinnen. Man hat dabei vor allem der Zahl der gefundenen Tuberkelbacillen im Präparat (und der daraus berechneten Zahl im ganzen Sputum) besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Ich will hier auf diese Zählungen etwas näher eingehen.

Gaffky (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 126) schlug vor, den Bacillenreichtum des Präparates durch Ziffern von I—X der Abkürzung wegen auszudrücken. Seine Tabelle, die jetzt vielfach im Gebrauch ist, lautet wie folgt:

I = im ganzen Präparat nur 1—4 Bacillen
II = durchschnittlich auf mehrere Gesichtsfelder erst ein Bacillus
III = „ „ in jedem Gesichtsfelde etwa ein Bacillus
IV = „ „ „ „ „ „ 2—3 Bacillen
V = „ „ „ „ „ „ 4—6 „
VI = „ „ „ „ „ „ 7—12 „
VII = „ „ „ „ „ ziemlich viele „
VIII = „ „ „ „ „ zahlreiche „
IX = „ „ „ „ „ sehr zahlreiche „
X = in jedem Gesichtsfelde enorme Mengen von Bacillen. [1])

Untersuchung keine Tuberkelbacillen nachzuweisen sind, da besteht, vorausgesetzt dafs überhaupt Sputa vorhanden sind, entweder überhaupt keine Lungentuberkulose, oder es fehlen wenigstens Schmelzungsherde in den Lungen, welche ihren käsig-infektiösen Inhalt nach aufsen entleeren" (Oskar Fräntzel, D. Med. Wschr. 1883 Nr. 17 p. 245). Im Falle solcher negativen Befunde schlugen Balmer und Fräntzel (Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 45 p. 679) vor, das Sputum mindestens 4—6 Tage hintereinander sorgfältigst auf Tuberkelbacillen zu untersuchen.

[1]) „Kontrolluntersuchungen ergaben übrigens, dafs durch diese Schätzung bei einem und demselben Präparat fast regelmäfsig genau dasselbe Resultat erzielt wurde."

Er benutzte zur Untersuchung Zeifs homog. Imm. $^1/_{12}$ mit Okular II, und es ist zu betonen, dafs durch Veränderungen der optischen Kombination, d. h. durch Wechsel in Objektiv, Okular oder der Tubuslänge der Durchmesser des Gesichtsfeldes ein anderer wird, wodurch natürlich auch die Zahl der auf ein Gesichtsfeld fallenden Bacillen bedingt ist. Die Gaffky'sche Tabelle gilt also eigentlich nur für die von Gaffky angegebene optische Kombination bei Zeifs'scher Tubuslänge. Jedenfalls mufs man sich aber, wenn man vergleichende Untersuchungen macht, stets ein und derselben optischen Kombination bedienen.

Da die Verteilung der Tuberkelbacillen im Sputum eine höchst ungleichmäfsige ist, so hat man versucht, diesen Fehler durch Homogenisierung des Sputums zu beseitigen und dann den Bacillengehalt der gesamten Quantität zu berechnen.

Stroschein (Mitteil. a. Dr. Brehmer's Heilanstalt 1889 p. 289 bis 290) verfuhr dabei wie folgt: Von dem durch Schütteln mit der einfachen oder doppelten Menge Boraxborsäurelösung homogen gemachten Sputum „entnimmt man mittels einer Pipette von 1—2 ccm Inhalt, die in 100 beziehentlich 200 Teile geteilt ist, eine kleine, schaumfreie Menge und läfst 0,01 ccm auf ein Deckglas fliefsen, [1]) woselbst es mit der Spitze der Pipette gleichmäfsig bis zum Rande ausgebreitet wird. Hierauf läfst man das Deckglas trocknen," fixiert und färbt wie gewöhnlich.

„Die Berechnung der Bacillen-Anzahl im Präparat findet in folgender Weise statt:

Ist der wirkliche Durchmesser eines Gesichtsfeldes bekannt, der bei Immersion $^1/_{12}$ von Leitz und Okular Nr. III beispielsweise 0,19 mm beträgt, so bestimmt man hieraus die Gröfse eines Gesichtsfeldes und findet durch Division in den Flächeninhalt des Präparats, den man ausmifst, die gesamte Anzahl derselben." „Hat man ferner nach Durchmusterung von 10—15 Gesichtsfeldern die mittlere Anzahl der Bacillen pro Gesichtsfeld festgestellt, so findet man ihre Gesamtmenge durch Multiplikation mit der Zahl der Felder. Die so gefundene Ziffer entspricht der Anzahl der Tuberkelbacillen in 0,01 ccm des um das Einfache oder Doppelte verdünnten Sputums."

Amann (Die Mikroskopische Sputumuntersuchung, Davos 1891, p. 18—19) verreibt das zu untersuchende Sputum zwischen 2 geschliffenen Glasplatten, „bis die ausgebreitete Masse bei 50 f. Vergröfserung keine Verschiedenheiten mehr zeigt". Davon beschickt er 5 tarierte Objektträger und wiegt dieselben danach rasch. Aus dem

---

[1]) Um solche geringe Mengen sicher und gefahrlos entnehmen zu können, empfiehlt Stroschein die Pipette mit einer Saugvorrichtung zu versehen, welche der bei der Stroschein'schen Spritze in Anwendung kommenden nachgebildet ist. „Sie besteht aus einem 5—6 cm langen Glasrohr von solchem Lumen, dafs man das obere Ende der Pipette hineinstecken und darin verschieben kann. Das Rohr ist an einem Ende kugelig zugeschmolzen. Über das andere offene Ende ist ein ca. 15 mm langes Stückchen roten, wenig clastischen Gummischlauchs, das ein wenig kleiner ist als der äufsere Umfang der Pipette, in der Art aufgestreift, dafs die eine Hälfte auf dem Rohr festsitzt, die andere dagegen locker, aber doch luftdicht auf der Pipette schleift. Durch Auf- und Abwärtsschieben dieser Vorrichtung bewerkstelligt man eine Füllung resp. Entleerung der Pipette, und man ist damit im Stande, in leichtester Weise Hundertstel eines Kubikcentimeters abzumessen." (Es empfiehlt sich noch mehr, die Saughülse drehend statt schiebend zu bewegen! Verf.)

Gewicht berechnet er sich mit annähernder (!) Berücksichtigung des spez. Gewichts des Sputums den entsprechenden Rauminhalt. Die beschickten Objektträger trocknet und fixiert er durch längeres Erhitzen bei 60° (!) im Luftbad (Amann, Cbl. f. Bakt. 1891 Nr. 1). Er färbt sie dann nach seiner, nicht näher angegebenen Methode und untersucht sie in der Weise, „dafs mittels eines Mikrometer-Objektführers von jedem Präparate 10 Streifen von je 4 Quadratmillimeter Fläche systematisch durchgesucht und sämtliche darin sichtbare Bacillen gezählt" werden (also zusammen in 50 Streifen mit 200 qm Fläche). Aus der gefundenen Zahl berechnet er sich die Anzahl der in der Gesamtfläche der 5 Präparate vorhandenen Tuberkelbacillen und durch Division dieser Ziffer in die Zahl der vorher berechneten Kubikmillimeter die Anzahl der Tuberkelbacillen im Kubikmillimeter des Sputums.

Wie dem Unbefangenen einleuchten wird, besitzt jede dieser beiden Zählungsmethoden ganz erhebliche Fehlerquellen schon wegen der dabei immer notwendig werdenden Abrundungen. Durch die vorgenommenen Multiplikationsrechnungen vergröfsert sich jeder Fehler natürlich ins Ungeheuerliche. Die Amann'sche Methode dauert noch länger als die Stroschein'sche Methode und bietet diese Fehlerquellen wegen der Umrechnung aus den Gewichts- in Raumverhältnisse in erhöhtem Mafse. Man kann also mit beiden Methoden doch nur ungenaue Resultate zu erhalten erwarten. Es ist nun die Frage, ob diese ungenauen Resultate den aufgewendeten Zeitaufwand wert sind. Ich verneine das für meine Person auf das entschiedenste. Wenn man bedenkt, dafs der Bacillengehalt nicht nur in einzelnen Teilen des Sputums, sondern auch in dem zu verschiedenen Tageszeiten entleerten Auswurf ungemein wechselnd ist, so wird man ohne weiteres zugeben müssen, dafs man besten Falls die Anzahl der Tuberkelbacillen in der gerade zur Untersuchung gelangten Sputumportion bestimmt,[1]) ohne bindende Rückschlüsse für das übrige Tagessputum. Man müfste also stets das gesamte Tag- und Nachtsputum zur Untersuchung vornehmen. Das ist leider praktisch undurchführbar. Zudem noch ein Bedenken: wird denn wirklich eine ganz genau gleichmäfsige Verteilung der Bacillen zu Sputum durch die Homogenisierung erreicht? Ich behaupte nein. Sie wird um so schwerer zu erreichen sein, je viscider die Flüssigkeit ist. Damit verliert die Methode aber ihren Wert. Wenn wir schon mit ungenauen Zahlen arbeiten müssen, dann genügt auch die einfache Gaffky'sche Tabelle ohne den ganzen komplizierten Apparat, man mufs sich eben nur stets bewufst sein, dafs es sich dabei um eine annähernde subjektive Schätzung handelt.

Für ganz verfehlt halte ich es, aus der Zahl der Tuberkelbacillen einen Schlufs auf die Schwere des Falls ziehen zu wollen. Im allgemeinen ist die Zahl der Tuberkelbacillen nicht bedingt durch die Schwere des Falls. „Aus der Menge der Bacillen im Auswurf läfst sich die Menge der in den Geweben vorhandenen Bacillen nicht beurteilen" (B. Fränkel, Berl Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 216). Ein Patient mit stationärer Phthise kann aus seinen abgekapselten, vielleicht grofsen Kavernen enorme Mengen von

[1]) In dieser Hinsicht halte ich die Stroschein'sche Methode für ganz empfehlenswert, wenn es sich darum handelt, Tiere mit annähernd bestimmten Mengen von Tuberkelbacillen zu infizieren.

Tuberkelbacillen expektorieren — die Prognose wird darum (natürlich abgesehen von der Gefahr der Selbstinfektion) nicht sonderlich schlechter. Ein anderer Patient hat trotz hohen Fiebers, Nachtschweifse etc. etc. fast keine Tuberkelbacillen, er geht vielleicht in Kürze zu Grunde. — Auch was die Zu- oder Abnahme der Tuberkelbacillen betrifft, so sei man vorsichtig und lasse sich nicht zu gewagten prognostischen Schlüssen hinreifsen. „Bei dem gewöhnlichen Gange der chronischen Phthise gibt die Menge der Bacillen keinen Anhaltspunkt für den Verlauf“ (B. Fränkel, Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 216). Natürlich nehmen, wenn ein Zerfallsprozefs vorschreitet, die Bacillen an Zahl zu; wenn er heilt, an Zahl ab. Dann gibt es aber auch gewisse Zunahmen, die nur bedingt sind dadurch, dafs sich bei der Reinigung eines tuberkulösen Geschwürs plötzlich eine etwas gröfsere tuberkelbacillenhaltige Partie abstöfst, ebenso wie es scheinbare Abnahmen gibt, weil, vielleicht blofs durch Vorlegung eines Bronchus, das tuberkelbacillenhaltige Sekret zeitweise nicht mehr nach aufsen gelangt. Man mufs hier eben sehr vorsichtig abwägen. Ein plötzliches Auftreten von Tuberkelbacillen (während sie vorher stets vermifst wurden), zumal wenn sie sehr zahlreich und diffus im Präparat verteilt liegen, während die Zellen grofsenteils im Zerfall begriffen sind, pflegt ein sehr ominöses prognostisches Zeichen zu sein, und steht meist mit den übrigen subjektiven und objektiven Symptomen im Einklang. Anderseits ist das öfter beobachtete spärlichere Vorkommen resp. Fehlen der Tuberkelbacillen trotz aller gebrauchten Vorsichtsmafsregeln, als ein günstiges, auf Heilung deutendes Symptom zu begrüfsen, wenn es übereinstimmt mit dem übrigen Befund.

Schliefslich sollte man nie vergessen, dafs man eben in einer tuberkulösen Lunge alle Stadien des tuberkulösen Prozesses vom miliaren Tuberkel bis zur indurativen Pneumonie resp. zur käsigen Pneumonie, akuten Kavernenbildung und der Ausheilung der chronischen Kavernen nebeneinander vor sich haben kann.

Man hat auch mehrfach versucht, aus dem Aussehen, der Entwickelung und Färbbarkeit sowie aus der Lagerung der Tuberkelbacillen Schlüsse auf den Entwickelungsgrad des tuberkulösen Prozesses und event. auch für die Prognose desselben abzuleiten (zuerst wohl Balmer und Fräntzel, Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 45 p. 680). Dieser Versuch mufs als gescheitert angesehen werden, schon aus dem Grunde, weil man meistens alle möglichen Formvarietäten von Tuberkelbacillen in einem und demselben Präparat nebeneinander vor sich hat. Doch glaube ich sind gewisse Schlüsse natürlich unter gröfster Vorsicht erlaubt. Wenn wir uns des Verhaltens anderer Bacillenarten (und der Tuberkelbacillen selbst in Reinkultur) erinnern, so werden wir, glaube ich, nicht fehl gehen, wenn wir die kurzen Formen der Tuberkelbacillen als Zeichen einer raschen Vermehrung, die langen dagegen als durch langsamere Vermehrung bedingt ansehen. Die ersteren finden sich hauptsächlich in jungen Reinkulturen, bei akuter Einschmelzung (Bildung von frischen Kavernen); den letzteren dagegen begegnet man sehr häufig wie in alten Kulturen so in sich bereits abkapselnden, also älteren Kavernen (hier sind auch besonders häufig die von Koch u. a. beschriebenen „sporen“ haltigen Tuberkelbacillen). Naturgemäfs findet man dann neben den langen

Formen auch sehr häufig noch die kurzen, zumal ja auch meist ältere und jüngere Prozesse in den Lungen nebeneinander bestehen. Schlecht färbbaren und zerbröckelten Bacillen (neben denen sich aber sehr häufig auch noch sehr gut färbbare und typische Exemplare finden können) begegnet man bei eintretender Heilung und vielfach nach Behandlung (klimatischer, mit arseniger Säure, Koch'schen Injektionen etc.). Nach den Koch'schen Injektionen ist Amann (Cbl. f. Bakt. 1891 Nr. 1) aufgefallen, dafs sich die Tuberkelbacillen oft äufserst leicht wieder entfärben. Ich kann diese Beobachtung bestätigen. Doch sahen die Tuberkelbacillen dabei gar nicht einmal immer zerbröckelt aus. Sie hatten eben nur, wie es scheint, das Vermögen Farbstoffe festzuhalten in höherem oder geringerem Grade eingebüfst.[1])

Etwas mehr Anhaltspunkte für die Beurteilung des betreffenden Sputums und damit des Falles selbst kann man wohl erhalten, wenn man aufser den Tuberkelbacillen auch die übrigen Formbestandteile des Präparates berücksichtigt. Zunächst kann man schon häufig aus dem Allgemeineindruck des Präparates einen gewissen Schlufs ziehen auf die Stelle, von der das betreffende Sputum stammt. Findet man viele Plattenepithelien der Mundhöhle (meist umlagert von Coccenzooglöen, Streptococcenketten, Leptothrix- und Oidiumformen), so kann man mit an Gewifsheit grenzender Wahrscheinlichkeit behaupten, dafs das in Frage kommende Sputumpartikelchen Mundspeichel war (das Sputum war dann auch meist dünnflüssig, feinflockig); man wird in diesem Falle meist vergeblich nach Tuberkelbacillen suchen. Anderseits zeigt sich das Fehlen der Mundepithelien zumeist bei Lungensputen. Die Vermutung, dafs man es mit Lungensputum zu thun hat, wird gestützt, wenn man noch Alveolarepithelien auffinden kann. (Findet man Alveolarepithelien mit Tuberkelbacillen, so wird man wohl nicht fehlgehen, wenn man annimmt, dafs sie aus einem frischen tuberkulösen Entzündungsherd der Alveolen herrühren.) In ganz frischen oder in ganz alten Fällen (bei eintretender Heilung) pflegt der Zellreichtum des Präparates sehr gering zu sein. In den Zwischenstadien ist er meist viel reichlicher; es finden sich dabei dann vielfach Leukocythen oft in überwiegender Zahl, so dafs alle oder fast alle vorhandenen Zellen Leukocythen sind. Treten akute Zerfallsprozesse auf, so pflegen die Zellen zu Grunde zu gehen, ihre Kerne lassen sich leicht ausstreichen zu den bekannten kometenschweifartigen Figuren, während die Zellkonturen ganz verloren gegangen sind. Die Tuberkelbacillen sind dabei im Präparat meist diffus zerstreut. Findet man die in Fig. 25 u. 26 skizzierten Gruppierungen der Tuberkelbacillen, oder gar ganze klumpenartige Haufen derselben, so darf man sich wohl den Schlufs gestatten, dafs sie aus den abgestofsenen Wandfetzen von Kavernen stammen.

Was nun die Bedeutung der im Sputum gefundenen fremden Mikrobien angeht, so ist zu bemerken, dafs ihre selbst reichliche Anwesenheit im Mundsputum ein ganz gewöhnliches Vorkommnis ist.[2])

---

[1]) Man darf übrigens nicht vergessen, dafs man ein Urteil über Färbbarkeit der Tuberkelbacillen nur dann abgeben darf, wenn man sich fortlaufend ein und derselben Methode bedient und der Zuverlässigkeit seiner Lösungen sicher ist.

[2]) Doch sollte dies ein Fingerzeig sein, der Reinhaltung der Mundhöhle mehr Aufmerksamkeit zu schenken, einesteils weil durch im Mundspeichel vorkommende Mikrobien (deren bereits eine ganze Zahl bekannt ist) eine Infektion der Lungen erfolgen könnte, anderseits, weil durch ihr Vegetieren die Verdauung (auf deren Hebung beim Phthisiker sehr grofses Gewicht gelegt werden mufs) leidet.

Anders liegt die Sache aber, wenn man aus den übrigen makroskopischen und mikroskopischen Anzeichen darauf schliefsen darf, dafs das untersuchte Sputum aus den Lungen stammt. Es gibt gewisse plötzliche Fieberattacken bei sonst fieberlosen Phthisikern, bei denen plötzlich reichliches Sputum (welches man als Lungensputum bezeichnen mufs) auftritt, und welches kolossale Mengen von fremden Mikrobien enthält.[1]) Die Tuberkelbacillen sind dabei meist sehr spärlich oder fehlen sogar ganz. Man hat es also mit einer Mischinfektion bei bestehender Tuberkulose zu thun. Es erfolgt jetzt entweder Exitus infolge dieser Mischinfektion, oder dieser nicht tuberkulöse Prozefs bildet sich — und zwar unter sehr günstigen Umständen ohne nachweisbare Residuen — wieder zurück, trotzdem vorher kolossale Infiltrationen des Lungengewebes nachweisbar waren. Die Gefahr liegt aber sehr nahe, und leider nur zu häufig mufs man es erleben, dafs das infolge der Mischinfektion infiltrierte Gebiet jetzt nachträglich nach Verlauf einer gewissen Inkubationszeit tuberkulös wird, wobei jetzt dann reichlichere Tuberkelbacillen im Sputum auftreten. Die interkurrente Mischinfektion hatte also einen günstigen Boden für die Verbreitung der Tuberkelbacillen geschaffen. Man wird daher in solchen Fällen ganz besonders vorsichtig sein müssen. Etwas anderes ist es, wenn man es nach allen sonstigen Erscheinungen und Sputummerkmalen nicht mit einem akut einsetzenden oder exacerbierenden, sondern einem subakuten oder chronischen Falle zu thun hat, der aber vielleicht immer von Fieber, Nachtschweifsen etc. begleitet ist. Auch hier kann man in Lungensputen kolossale Mengen von fremden Bakterien (daneben die erwähnten scholligen Gebilde) neben sehr spärlichen oft schlecht färbbaren Tuberkelbacillen finden. Die Prognose ist hier weniger bedenklich. Meist handelt es sich um chron. Bronchitiden, Bronchiektasie, Bronchitis putrida etc. neben Tuberkulose.

Für die einzuschlagende Therapie geben diese Befunde aber, wie ich glaube, eventuell Fingerzeige. Während man im ersten Falle Alkohol in dreisten Gaben geben kann, und vor allem die Herzkraft stimulieren und erhalten mufs, um zunächst die akute Attacke zu überwinden, wird man im zweiten Falle der chronischen Mikrobieninvasion vielleicht von der Anwendung balsamischer Mittel zur Inhalation oder intern neben der sonstigen roborierenden Behandlung sich Erfolg versprechen dürfen. Man kann dann hoffen, unter gleichzeitiger Hebung des Allgemeinbefindens auch des Fiebers und der Nachtschweifse Herr zu werden.

Zum Schlusse will ich noch auf die sehr wichtige Frage eingehen, wann man einen Phthisiker als geheilt betrachten soll. Da handelt es sich zunächst um die Frage, ob es überhaupt wirkliche Heilungen bei der chronischen Tuberkulose gibt. Man hat vielfach beobachtet, dafs bei „geheilten“ Patienten trotz subjektiven Wohlbefindens sich alte tuberkulose Knoten (fibrös oder verkalkt) vorfanden, in denen man auf Schnitten noch Tuberkelbacillen nachzuweisen vermochte. Ja es ist auch geglückt, mit diesen verkalkten Knoten positive Impferfolge zu erzielen. In diesen Fällen kann man doch wohl immer nur von einer „relativen“ Heilung sprechen, da ja noch virulente Keime (freilich abgekapselt) vorhanden waren.

[1]) Für das Folgende ist natürlich immer vorausgesetzt, dafs man frisch expektoriertes Sputum zu Untersuchung erhält, in dem nicht etwa nachträglich eine Vermehrung von Mikrobien stattgefunden hat.

Etwas anderes ist es mit der akuten Tuberkulose, bei der, falls sie nicht chronisch wird, eine vollkommene Vernichtung der Tuberkelbacillen durch die Thätigkeit der Zellen des Organismus erfolgen kann. Dann hätten wir also eine absolute Heilung (wie sie z. B. bei Infektion von gegen Tuberkulose immunen Tieren, z. B. Ratten, mit Tuberkelreinkulturen beobachtet werden kann). Vielleicht werden wir auch mit Hilfe des Koch'schen Mittels absolute Heilungen erzielen können, da es selbst alte chronische Herde in einen gewissen Entzündungszustand versetzt, erweicht und dadurch die in dem abgekapselten chronischen Prozesse eingeschlossenen Bacillen wieder zugänglich macht (allerdings mit der Gefahr einer Selbstinfektion).

Ob wir eine absolute oder nur eine relative Heilung der Tuberkulose im Einzelfalle erzielen, wird sich in vivo gar nicht entscheiden lassen. Wir müssen uns also begnügen, ev. eine relative anzunehmen. Wann sollen wir aber eine solche als eingetreten erklären? Ich will als Antwort auf diese Frage die Worte meines verstorbenen Chefs folgen lassen, der als der Begründer der Lehre von der Heilbarkeit der Phthise wohl die gröfste Erfahrung in diesem Gebiet besafs. Brehmer schreibt (Die Therapie der chronischen Lungenschwindsucht, Wiesbaden 1887 p. 200) wörtlich folgendes:

„Kann man aber jetzt noch von Heilung der Lungenschwindsucht reden, ohne neben den anderen Kennzeichen nachgewiesen zu haben, dafs der Tuberkelbacillus im Auswurf allmälig geringer geworden und endlich dauernd daraus verschwunden ist? Nach meiner Ansicht ist dieser Nachweis jetzt die conditio sine qua non; denn wozu dann die Lehre: der Tuberkelbacillus ist die Ursache der Phthise und wo der Tuberkelbacillus ist, da besteht Tuberkulose? Das Bild des Gesunden ist sehr relativ, also auch sehr trügerisch, es berechtigt nicht, den Betreffenden für gesund zu halten. Die Residuen, die der Schwere des Falles entsprechend zurückbleiben, sie motivieren die Hoffnung auf Genesung, sie berechtigen aber nicht, den Kranken für geheilt zu erklären, solange nicht dabei durch Monate hindurch der Auswurf der Patienten bacillenfrei geworden resp. geblieben ist. Nur unter diesen Bedingungen erkläre ich den Phthisiker für geheilt."

ANHANG.

Der Nachweis der elastischen Fasern im Sputum.

Der Nachweis der elastischen Fasern im Sputum, auf den man früher das gröfste Gewicht legte, ist durch die Entdeckung und die Erleichterung des Nachweises der Tuberkelbacillen sozusagen in den Schatten gedrängt worden, durchaus mit Unrecht, da auch der Nachweis der elastischen Fasern uns wertvolle Aufschlüsse zu geben wohlgeeignet ist.

Die elastischen Fasern stellen mehr oder minder starre Fäden dar von homogenem Aussehen und wechselnder Länge und Breite (1—3 μ). Sie sind cylindrisch bis plattbandförmig, stark glänzend und zeigen meist doppelte Konturen. Sie sind fast immer eigentümlich geschwungen, oft gabelförmig verzweigt, oft auch wellenförmig gebogen oder knäuelförmig zusammengerollt. Ihr Ende ist oft hirtenstabartig oder selbst weinrankenförmig gebogen. Sie finden sich einzeln (mitunter nur in Bruchstücken) oder in gröfseren Konvoluten;[1]) die aus der Lunge stammenden zeigen gewöhnlich eine netz- oder maschenförmige, „alveoläre" Anordnung (Fig. 4)[2]). Sie zeichnen sich durch ihre grofse Resistenz gegen Säuren und Alkalien (selbst beim Kochen) aus.

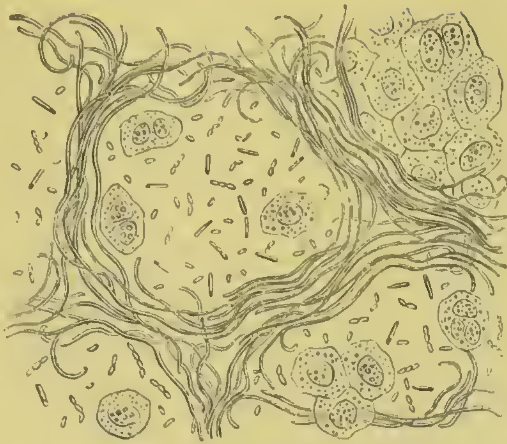


Fig. 4.

Es gibt verschiedene Methoden, um vorhandene elastische Fasern im Sputum nachzuweisen. Man findet sie am sichersten in den undurchsichtigen Partieen des Sputums, und zwar auch, wie die Tuberkelbacillen, in den bekannten weifslichen Pfröpfen, Kavernenbröckeln. Auch schenke man zu ihrem Nachweis vor allem dem Morgensputum Beachtung, „da sie in dem während der Ruhe angesammelten und konsistenteren Morgensputum eher zu erwarten sind, als in dem loseren, oft schleimigen Auswurf des Tages". (Dettweiler und Meifsen, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 7 p. 97.) Dettweiler (l. c.) riet, das verdächtige Auswurfspartikelchen einfach auf dem Objektträger unter dem Deckglase platt zu drücken und zu untersuchen. Die elastischen Fasern pflegen sich dabei meist an den Rand einzustellen, weshalb man diesen vornehmlich daraufhin abzusuchen hat. „Sie erscheinen" bei dieser Methode nach Dettweiler „wesentlich gröfser, als sie gewöhnlich beschrieben und abgebildet werden, teils als Netze oder Knäuel, teils, und zwar sehr häufig, als förmliche Alveolargerüste." Man sucht die Diagnose der elastischen Fasern noch zu verschärfen, indem man, sich ihrer hohen Resistenz gegen Alkalien erinnernd, das Präparat mit Kalilauge behandelt. Man breitet zu diesem Zwecke entweder das Sputumpartikelchen auf dem Objektträger unter dem Deckglase aus und setzt vom Rande her 5—10 %ige Kalilauge zu, oder man untersucht es direkt in einem Tröpfchen Kalilauge. Es treten dabei die elastischen Fasern deutlicher hervor, während die übrigen Bestandteile des Präparates mehr oder weniger gelöst werden. Auch durch Zusatz von Essigsäure werden die elastischen Fasern deutlicher sichtbar gemacht.

Sind die elastischen Fasern in dem zu untersuchenden Auswurf wahrscheinlich in sehr geringer Menge vorhanden und wünscht man keine etwa vorhandenen zu übersehen, so kann man das Sputum homogenisieren und sedimentieren. Man schüttelt zu diesem Zwecke das Sputum mit dem gleichen oder doppelten Volum Wasser, Kochsalz- resp. Boraxborsäurelösung durch, verdünnt ev. bei sehr kon- Sedimentieren.

[1]) In sehr seltenen Fällen werden ganze Lungenfetzen in toto expektoriert.
[2]) Die Abbildung ist v. Jaksch's „Klin. Diagnostik" entnommen.

sistentem Sputum noch stärker, läfst sedimentieren (24 Stunden) und untersucht das Sediment. Oder man kocht 8—10 gr oder das ganze zu untersuchende Sputum ungefähr mit der gleichen Menge 8—10 %iger Kalilauge (Fenwick), bis die Masse homogen geworden ist, verdünnt mit dem 3—4fachen Vol. Wasser und läfst dann ca. 24 Stunden sedimentieren. Von dem Sediment entnimmt man mittels einer durch aufgelegten Finger bis zur Tiefe des Sediments geschlossen eingeführten Pipette einige Proben, oder man giefst alles bis auf das Sediment ab oder trennt dieses von der Flüssigkeit durch Filtrieren und untersucht es dann wie gewöhnlich. Wenn überhaupt elastische Fasern vorhanden waren, so findet man sie im Sediment entschieden leichter, weil sie hier auf kleinen Raum zusammengedrängt sind. Sie sind aber bei dieser Methode viel blasser und dünner, wohl durch Schuld der langen Einwirkung der Lauge. Ich habe deshalb nach erfolgter Homogenisierung des Sputums und Verdünnung die ganze alkalisch reagierende Masse mit Phenolphthaleïn rot gefärbt und dann Essigsäure bis zur Neutralisation, d. h. bis zum Verschwinden der roten Farbe zugesetzt.

Die elastischen Fasern lassen sich auch färben, so mit Methylviolett (Weigert), Victoriablau, Haematoxylin (Herxheimer), Fuchsin und Dahlia (Dettweiler, Unna, Tänzer). Erwähnenswert erscheint mir die Sputumfärbemethode von Dettweiler mit Fuchsinnachfärbung (l. c.), bei der ein Präparat von Kavernenbröckeln erscheinen soll „als ein dichter Filz blauer Stäbchen, durch welche die rotgefärbten Züge der elastischen Fasern sich erstrecken“.

Gelingt der sichere Nachweis von elastischen Fasern, so ist damit unter allen Umständen das Bestehen eines Destruktionsprozesses erwiesen.[1]) Die elastischen Fasern können stammen aus der Trachea, den Bronchien und dem Lungenparenchym,[2]) falls sie nicht etwa blofs mit der Nahrung eingeführt waren (Speisereste, die dem Sputum beigemischt sind!). Man hüte sich auch vor Verwechselungen mit Baumwollenfasern (ohne doppelte Konturen), Fett-

---

[1]) Man mufs sehr vorsichtig sein in der Diagnose der elastischen Fasern. Irgendwie zweifelhafte Bilder oder vereinzelte Fasern lasse man nicht als beweiskräftig gelten. „Der Befund ist als sicheres diagnostisches Merkmal nur verwertbar, wenn die elastischen Fasern in ihrer alveolären Anordnung ihre Abstammung aus den Alveolen sicher erkennen lassen“ (v. Jaksch, Klin. Diagnostik 1887 p. 65).

[2]) Man hat verschiedentlich geglaubt, aus dem Aussehen der elastischen Fasern auf ihren Ursprung schliefsen zu dürfen. So schreibt Amann (Die mikroskopische Sputum-Untersuchung. Davos 1891. p. 23): „Es ist in der Regel möglich, je nach der Form und dem Aussehen dieser Fasern auf ihren Ursprung zu schliefsen. Diejenigen der Trachea sind dünn, schlank, oft wenig verbogen oder fast geradlinig; die Fasern der Bronchien sind etwas dicker und mehr gebogen; die Lungenfasern endlich zeigen die charakteristische Alveolarform.“ Auch Kaatzer (Das Sputum p. 14) gab an, dafs sie „z. B. bei phthisischen Kehlkopfsulcerationen feiner und geradliniger als die gebogenen und gewundenen Lungenfasern“ erscheinen. Ich möchte demgegenüber von neuem den Standpunkt Biermer's betonen, welcher, wie ich glaube, noch heute mafsgebend sein mufs: „Man kann die Formunterschiede der elastischen Faserpartieen nicht benutzen, um aus der Längsrichtung die blofse Destruktion der Bronchien oder aus der netzförmigen Anordnung der Fasern die blofse Destruktion des Parenchyms zu diagnostizieren, denn einerseits würde eine solche Unterscheidung fast immer praktisch nutzlos sein, da Destruktionen der Bronchien und des Parenchyms meistens Hand in Hand gehen, anderseits widerspricht eine solche Trennung den histologischen Thatsachen, da die elastischen Fasern des Parenchyms von derselben Art sind, wie die der Bronchien und bisweilen auch mehr das Bild einer Längsfaserung geben können“ (Biermer, Die Lehre vom Auswurf p. 45).

säurenadeln (schmelzen beim Erhitzen). Die Hauptmasse der im Sputum sich findenden elastischen Fasern stammt aus den Lungen. Sie können sich bei jedem Destruktionsprozefs der Lungen finden, so z. B. auch bei Lungenabszefs, Bronchiectasie,[1]) grofsenteils verdanken sie ihr Freiwerden den durch Tuberkulose bedingten Zerstörungen des Lungenparenchyms. Sie fehlen daher, auch bei bestehender Tuberkulose, wenn keine Destruktionsprozesse vorhanden sind, also sowohl in den Anfangsstadien, wo sich noch keine Destruktionen gebildet haben, als auch in den Heilungsstadien, wo die bereits entwickelten Destruktionen zum Stillstand und zur Vernarbung gekommen sind. Die elastischen Fasern sind also keinesfalls pathognomonisch für Tuberkulose. Sie finden sich jedoch sehr häufig bei Tuberkulose[2]) und bieten, wenn die Diagnose der Tuberkulose durch den Nachweis der Tuberkelbacillen gesichert war, ein willkommenes Kriterium für die Beurteilung des Verlaufs des tuberkulösen Prozesses.

Hat man bei längerer Beobachtung der Sputa eines Patienten eine konstante Abnahme der elastischen Fasern gefunden, so ist das als ein günstiges auf, wenigstens lokale, Heilung deutendes Zeichen anzusehen, welches ev., natürlich unter sorgfältigster Berücksichtigung der übrigen subjektiven und objektiven Erscheinungen, für die Prognose mit verwertet werden kann. Im entgegengesetzten Falle ist ein plötzliches Auftreten, resp. eine konstante Zunahme der elastischen Fasern bei wiederholter Beobachtung als ein ungünstiges Symptom zu betrachten, weil es anzeigt, dafs plötzlich ein Zerstörungsherd aufgetreten ist, oder dafs ein schon bestehender Destruktionsprozefs weiter um sich greift. „Die Abwesenheit oder Nichtauffinden von elastischen Gewebsteilen im suspekten Auswurf berechtigt keineswegs zu negativen Schlüssen“ (Biermer, Die Lehre vom Auswurf p. 47). Es können auch sehr wohl Destruktionsprozesse in den Lungen vorkommen, bei denen, weil das Gewebe noch nicht eitrig eingeschmolzen, und sie noch nicht in die Bronchien durchgebrochen sind, die elastischen Fasern noch nicht nach aussen entleert werden. Auch können trotz vorhandener grofser Kavernen elastische Fasern fehlen. Biermer bemerkt, dafs sie bei sich rückbildenden Kavernen öfters fehlen, als vorhanden sind. Sie sind also nur als Zeichen eines aktiven Zerfallsprozesses, der irgendwie mit den Ausführungswegen des Respirationstrakts kommuniziert, aufzufassen. Es können trotz Fehlens der elastischen Fasern im Sputum die hochgradigsten Destruktionsprozesse in den Lungen bestehen.

Was das Verhältnis des Vorkommens der elastischen Fasern zu dem der Tuberkelbacillen betrifft, so pflegen die letzteren immer früher nachweisbar zu sein, schon bei initialer Haemoptoë (Hiller, D. Med. Wschr. 1882 Nr. 47). Im allgemeinen hat sich der Dettweiler'sche Ausspruch (l. c.) bestätigt: „wo bei bestehender Tuber-

---

[1]) Bei Lungengangrän, auch bei Lungencarcinom fehlen sie meist, weil sie dabei aufgelöst werden (Traube).

[2]) Salkowski und Greiff (D. Med. Wschr. 1878 Nr. 6) fanden sie in 75% aller ihrer Fälle, Dettweiler und Setzer (ibid. Nr. 11) bei 99 von 110 Phthisikern, später Dettweiler und Meifsen (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 7 p. 97) in 82 von 87 Fällen (nach Entdeckung des Tuberkelbacillus).

kulose „elastische Fasern im Auswurf vorhanden sind, finden sich auch Bacillen, und zwar je massenhafter die Fasern um so massenhafter auch die Bacillen". Auch Leyden (Ztschrft. f. Kl. Medic. VIII 1884 p. 375) hat bei Tuberkulose, wenn elastische Fasern im Auswurf vorhanden waren, die Tuberkelbacillen nie vermifst. Man darf dies aber nicht umkehren wollen. Es ist geradezu erstaunlich, wie oft trotz vorhandener und zwar reichlich vorhandener Tuberkelbacillen die elastischen Fasern fehlen.

Schema zur Einzeichnung des Sputumbefundes.

Folio Nr. Nr. der Untersuchung. Krankenjournal Nr.

Sputum.

Name:
Arzt:
Datum:

I. Makroskopisch.

A. Quantität:
B. Qualität:
a. Aussehen: { α. Farbe:
β. Charakter: }
b. Konsistenz:
c. Geruch:
d. Reaktion:

II. Mikroskopisch.

A. Zellige Elemente:
α. Pflasterepithel:
β. Alveolarepithelien:
γ. Eiterkörper:
δ. Hyaline (?) Schollen:
B. Tuberkelbacillen:
α. Zahl:
β. Aussehen:
γ. Färbbarkeit:
δ. Sporen:
ε. Lagerung:
C. Fremde Mikrobien:
α. Art:
β. Zahl:
D. Elastische Fasern:
E. Sonstige Bemerkungen:

Unterschrift des Untersuchers:

Vorschriften.

Im folgenden gebe ich eine nach den Autornamen alphabetisch geordnete Sammlung der Originalvorschriften, A. zur Sedimentierung, B. zur Tuberkelbacillenfärbung. Die Vorschriften sind womöglich wörtlich entnommen.

A. Sedimentierverfahren.

Biedert I (Berl. Kl. Wschr. 1886 Nr. 42 p. 713).

„Es wird 1 ($^1/_2$) Eſslöffel voll von dem Auswurf mit 2 ($^2/_3$) Eſslöffel Wasser und 15 (7—8) Tropfen Liqu. Natr. caust. gekocht bis zur Verflüssigung, dann werden weitere 4 ($^4/_2$) Eſslöffel Wasser zugesetzt und weiter gekocht, bis eine gleichmäſsige Flüssigkeit, in welcher nur noch einzelne kleine Partikelchen schwimmen, entsteht. Ist nach dem Erkalten die Masse noch nicht ganz dünnflüssig, so kann man weitere 3—6 ($^3/_2$ — $^6/_2$) Eſslöffel voll Wasser zusetzen. Die Masse wird in einem Spitzglase 2—3 T. ruhig hingestellt. Danach finden sich in den oberflächlichen Schichten keine oder nur noch verhältnismäſsig sehr wenig Tuberkelbacillen mehr. Die Flüssigkeit wird nun abgegossen bis auf eine kleine ca. 5—8 mm hohe, in der Spitze bleibende Schicht, in welcher sich auch die Partikelchen angesammelt haben. Nach tüchtigem Umrühren und Umschütteln entnimmt man von diesem Rest mit der Platinöse nach und nach einige Tröpfchen mit den Partikelchen, die unter gehörigem Verreiben in mäſsiger Wärme auf dem Deckglas angetrocknet werden. Dann wird, wie gewöhnlich, 3 mal durch die Flamme gezogen und gefärbt.“

„Da das Eiweiſs des Auswurfs durch die Behandlung mit Natron mehr oder minder löslich geblieben ist, so kann, wenn man nicht sehr geschickt bei dem Antrocknen gewesen ist, sich beim Färbeverfahren in den verschiedenen Flüssigkeiten mehr oder weniger von der aufgetrockneten Schicht von dem Deckglase wieder lösen. Das läſst sich dann verhüten, wenn man etwas frisches oder auch wieder aufgelöstes (luft-)trockenes Hühnereiweiſs mit verreibt und mit antrocknet“ (p. 713).

„Vergleichsversuche über die gesteigerte Zeitdauer für das Absetzenlassen der Flüssigkeit ergaben die gröſste Anzahl (von Tuberkelbacillen) nach 2—3 Tagen. Darüberhinaus schien keine Vermehrung“ (der Zahl durch das Absetzen) „mehr stattzufinden“ (p. 714).

Es fiel auf, „daſs in den nach der Ehrlich'schen Methode gefärbten (Präparaten) die Bacillen nicht bloſs — in manchen Exemplaren auffallend — matter gefärbt waren, sondern daſs auch häufig eine ganz deutlich geringere Zahl gefärbter Bacillen überhaupt wahrnehmbar war. Besonders auffällig zeigte sich dieser Unterschied, wenn man nun den bacillenhaltigen alkalischen Satz eine weitere Reihe von Tagen (3 — 5 — 10 – 14 Tage) stehen lieſs. Es trat dann bei beiden Färbemethoden (nach Ehrlich und Neelsen-Johne), aber in viel stärkerem Maſse bei der Ehrlich'schen eine Verminderung der nachweisbaren Bacillen ein, so daſs früher zahlreiche dann manchmal selbst nur vereinzelt auftreten“.

„Die Annahme, daſs es sich hier um eine Wirkung der Alkalien handelt, bestätigt sich dadurch, daſs man immer weniger färbbare Bacillen bekommt, wenn man auch nur etwas mehr Natronlauge, als oben angegeben, zu unserem Verfahren verwendet.“ „Und zwar war bei der Methode mit Alkoholfärbung (nach der Säure) das Ergebnis an Bacillen hier stets besonders geringfügig oder Null“ (p. 714).

II (Berl. Kl. Wschr. 1891 Nr. 2 p. 32).

„Man sammelt möglichst einen Efslöffel (15 ccm) Sputum, oder wenn bereits mehr vorhanden ist, mischt man es mit einem Glasstab tüchtig durcheinander, entnimmt dann ca. 15 ccm und verrührt sie erst kalt mit 2 Efslöffeln Wasser und mit — je nachdem das Sputum mehr oder weniger dick ist — 4—8 Tropfen Natronlauge (nicht zu viel, da sich sonst die Bacillen weniger haltbar färben), kocht dann unter weiterem Rühren in einer Schale, in der man allmälig noch 4—6 Efslöffel zusetzt, bis eine ziemlich dünnflüssige Masse entsteht. Dieselbe läfst man dann in einem hohen, unten möglichst spitz zulaufenden Glase 2 Tage stehen (nicht länger), wobei sich alle geformten Teilchen mit den Tuberkelbacillen zu Boden senken, dann giefst man die Flüssigkeit bis zu dem Satz ($^1/_2$—$^3/_4$ ccm Höhe) ab und holt Teile von diesem, einschliefslich geformter Partikelchen, mit einer Platinnadel zum Ankleben auf ein Deckglas heraus."

III. D. Mdztg. 1891 Nr. 28 p. 333.

„Ein Efslöffel des mit Glasstab gut gemischten Sputums wird erst kalt mit 2 Efslöffel Wasser und 4—8 Tropfen Natronlauge tüchtig verrührt, 5 Minuten stehen gelassen und nochmals verrührt bis zu gleichmäfsiger Mischung, dann unter Rühren mit nach und nach weiter zugesetzten 4—6 Efslöffeln Wasser in einer Schale bis zur Dünnflüssigkeit gekocht. Dann läfst man alles in einem schmalen, hohen Glasgefäfs mit konkaver Bodenfläche stehen, giefst bis zu dem in der Kuppe bleibenden Satz ab und nimmt von diesem mit einer Platinnadel, um es wie bei sonstigen Präparaten auszubreiten. Da die Masse durch die Alkalien ihre Klebrigkeit eingebüfst hat, thut man gut, sich etwas von dem ursprünglichen Sputum aufzuheben und damit über den angetrockneten Satz vorm Durchziehen durch die Flamme einen dünnen Überzug zu machen. Gefärbt wird dann mit Karbolfuchsin und entfärbt mit Säure, z. B. 25 % Schwefelsäure ohne Alkohol, der hier zu viele Bacillen wieder entfärbt (cf. Hammerschlag). Ich lasse — was auch bei sonstigen Präparaten sich empfiehlt — immer ein Präparat durch 5 Minuten langes Erwärmen sofort, eins durch 12—24 stündiges Auflegen färben; in letzter Weise pflegt man mehr Bacillen zu bekommen."

(Nachteile: Mögliche Verluste an Tuberkelbacillen durch die Laugenbehandlung.)

Mühlhäuser (D. Med. Wschr. 1891 Nr. 7 p. 282).

Nicht immer 15 gr Sputum, wie Biedert verlangt, vorhanden, auch zur Untersuchung nicht nötig, daher:

Man schüttele „1—3 gr Sputum mit der 6—8fachen Menge vorher bereiteter 0,2 %iger Natronlauge in einem hohen Reagenzröhrchen ca. 100 mal unter öfterem Absetzen heftig" durch, „wodurch bei dünneren Sputis schon das meiste gelöst, jedenfalls alles in feinster Zerteilung von der Lauge durchdrungen wird, und koche dann einige Male auf, wodurch die Lösung in kurzer Zeit beendigt ist. Sehr zähe Sputen werden nötigenfalls nochmals so behandelt. Bei blofsem Verrühren ohne energisches Durchschütteln bleiben in letzterem auch nach längerem Kochen in der Schale oft dickere Flocken unzerteilt. Stärkere Lauge anzuwenden ist schädlich, es ist deshalb auch bei kleinen Mengen von Sputis besser, eine vorher bereitete Lösung von obiger Konzentration anzuwenden, als einen Tropfen konzentrierter Lauge zuviel zuzusetzen." Versuche mit Ätzammoniak fielen vorläufig nicht befriedigend aus.

Biedert (D. Medztg. 1891 Nr. 28 p. 333) bemerkt, dafs man sogar manchmal ohne Kochen nur mit tüchtigem Verschütteln eine genügend dünnflüssige Masse und ergebnisreiche Satzpräparate bekommt."

(Nachteile: Gefahr, Tuberkelbacillen durch die Laugenbehandlung zu verlieren.)

W. Philipp (Edinb. med. J. 1886 p. 109 Nov. nach Ref. Cbl. f. med. Wissensch. 1886 Nr. 51 p. 942).

Ph. läfst die 24 st. Sputummenge in einem Becherglase 1 T. lang in einer feuchten Atmosphäre v. 36—39⁰ C. stehen, wobei Sedimentation eintritt. Der Bodensatz wird zur Untersuchung verwandt. Er besteht aus den zelligen Elementen und den Bacillen und läfst sich leichter auf Deckglas verteilen als die Ballen des frischen zähschleimigen Sputums.

(Nachteile: Vermehrung fremder Mikroben. Oft unvollst. Sedimentation durch unvollst. Homogenisierung der festeren Teile des Sputums. Verf.)

Stroschein (Mitteil. a. Dr. Brehmer's Heilanstalt. Wiesbaden 1889 p. 294).

„Man füllt einen Teil des zu untersuchenden Sputums, ungefähr 5—10 ccm, in das Schüttelgefäfs“ (z. B. einen Mefscylinder von 100 oder mehr ccm mit eingeschliffenem Glasstopfen) „und setzt je nach Konsistenz das gleiche, doppelte oder dreifache Volumen einer Mischung von Boraxborsäurelösung (s. d.) und Wasser im Verhältnisse von 1 : 3 hinzu. Reine Boraxborsäurelösung zuzusetzen empfiehlt sich nicht, wegen des hohen spezifischen Gewichts von 1070, weil es der Sedimentierung hinderlich ist. Nachdem man das Schüttelgefäfs durch einen Stopfen oder eine Gummikappe geschlossen hat, schüttelt man ungefähr eine Minute recht energisch, bis sich keine gröberen Flöckchen mehr zeigen. Die geschüttelte Flüssigkeit giefst man in ein Spitzglas und läfst sedimentieren. Nach 24—28 Stunden giefst man die obere klare, schwach opalisierende Flüssigkeitsschicht ab und entnimmt vom Satze mittels der Saugpipette ein wenig und bereitet es in der oben angegebenen Weise zur mikroskopischen Untersuchung vor. Sollten sich keine Bacillen finden und der Satz noch stark schleimig sein, so schüttelt man ihn nochmals mit der Flüssigkeit und läfst wieder sedimentieren. Alsdann wird es sicher gelingen, Tuberkelbacillen zu finden, falls überhaupt welche im Sputum vorhanden waren.“

(Besser als die Biedert'sche und Mühlhäuser'sche Methode; nur lassen sich gewisse Sputen sehr schwer damit homogenisieren. Man mufs dann ev. viel mehr Boraxborsäurelösung nehmen.)

B. Tuberkelbacillenfärbung.

Amann (Schweiz. Wochenschr. f. Pharmac. 1887 Nr. 15 ref. Cbl. f. Bakter. 1887 Bd. II p. 24).

Färbung 24 St. in Lösung von 2% Gentianaviolett in konz. Anilinwasser. Entfärbung in einer Mischung von gleichen Teilen einer saturierten Kaliumbrom-Lösung und Liqu. ferr. perchlor., die zuerst leicht erwärmt und dann zum Erkalten hingestellt wird, während 15 Sekunden. Abspülen bis zur Entfärbung in absolutem Alkohol.

(Erzeugung der „Coccen“bilder durch das naszierende Brom.)

Balmer-Fräntzel (Berl. Klin. Wochenschr. 1882 Nr. 45 p. 680).

„Hanfkorngrofse Menge“ (aus den trüben, schleimig-eitrigen Massen ohne besondere Auswahl mit einer reinen Pinzette herausgezogen) zwischen 2 Deckgläschen von 0,1—0,12 mm Dicke zusammengedrückt. Die Deckgläschen mit 2 Pinzetten langsam auseinandergezogen, „die an den beiden Deckgläschen anhafteten Auswurfpartikelchen“ getrocknet (?), indem erstere langsam dreimal hintereinander durch Bunsenbrenner gezogen werden.

Färbung mit Balmer-Fräntzel's Anilingentiana oder Anilinfuchsin 24 St. lang. Deckgläschen mit Pinzette aus Farbstofflösung genommen, in destilliertem Wasser abgespült und dann auf $^1/_2$—1 M. in verd. Salpeters. (1 T. auf 3 Aqu. dest.) gelegt. „Hierbei müssen die dem Deckglas anhaftenden Auswurffragmente völlig entfärbt werden. Genügt hierzu die angegebene Zeit nicht, so sind die Präparate meist von vornherein zu dick geraten und müssen so lange der Einwirkung der Säure ausgesetzt werden, bis sie entfärbt sind." Abspülen in dest. Wasser, Nachfärbung in konz. wäss. Bismarckbraun resp. Methylenblau $^1/_2$—1 M. Abspülen in dest. Wasser, zwischen Fliefspapier trocknen, resp. (wenn Präparate nicht gleich trocknen) noch 1—2 mal durch Bunsenflamme ziehen. Kanadabalsam.

Baumgarten I. (Negativer Nachweis. Cbl. f. med. Wiss. 1882 Nr. 25 p. 433).

„Man fertigt nach den von Koch und Ehrlich gegebenen Vorschriften Trockenpräparate von phthisischen Sputis an und benetzt dieselben mit sehr verdünnter Kalilauge (1—2 Tropfen der 33 % igen Kalilauge auf ein kleines Uhrschälchen dest. Wasser). Die im Präparate vorhandenen Tuberkelbacillen sind dann natürlich ohne weiteres bei 4—500 facher Vergröfserung auf das deutlichste zu sehen; durch leichten Druck auf das Deckgläschen kann man die Bacillen noch mehr aus den umhüllenden Gewebsdetritus- resp. Sekretmassen frei machen. Um nun die Möglichkeit einer Verwechselung der Tuberkelbacillen mit andersartigen gleichgestalteten Bacillenspecies auszuschliefsen, wird das Deckgläschen noch 2—3 mal durch eine Gasflamme gezogen, und nunmehr ein Tropfen einer diluierten (aber nicht allzuhellen) gewöhnlichen wässrigen Anilinviolettlösung (oder einer anderen kernfärbenden Anilinfarbstofflösung) auf das Präparat gebracht. Unter dem Mikroskop erscheinen jetzt alle vorhandenen Fäulnisbakterien intensiv blau (resp. braun u. s. w. je nach dem Farbton der Zusatzflüssigkeit), die Tuberkelbacillen dagegen sind absolut farblos geblieben und dabei in derselben Deutlichkeit zu sehen, wie auf dem einfachen Kalipräparate."

II. (Ztschr. f. Mikrosk. 1884 I).

Färbung in Mischung von 4 Tr. alkoh. Lösung von Methylviolett oder Fuchsin auf ein (kleines) Uhrschälchen mit Wasser. Etwas stärkere Konzentrationen bewirken schon in $^1/_2$—1 St. ziemlich starke Tinction. Entfärbung in Alkohol höchstens 1 Minute. Nachfärbung 5 Minunten in konz. (wässriger ?) Lösung von Bismarckbraun oder Methylenblau. Abspülen in Wasser. Trocknen, Einbetten in Mischung von (chloroformfreiem!) Kanadabalsam und Nelkenöl âû).

Biedert (nach Ehrlich u. Rindfleisch modif., Virch. Arch. 98 p. 94).

Färbung in „Fuchsinlösung, hergestelltdurch Eintröpfeln von 8—12 T. konzentrierter alkoholischer Fuchsinlösung in Anilinwasser, das durch $^2/_3$ Füllung eines Reagenzglases, dessen Kuppe Anilinöl enthielt, mit destilliertem Wasser. Schütteln und Filtrieren stets frisch zubereitet war", in einem Uhrglase auf der Lösung schwimmend, „über der Flamme erwärmt bis zu 2—3maligen deutlichen Aufdampfen; dann wird es mit einer Pinzette herausgehoben, mit einer Spritzflasche und destilliertem Wasser abgespritzt in 30 prozentiger Salpetersäure und Alkohol etwa 1—2, hin und her gespült und soweit entfärbt, bis nach neuem Abspritzen mit Wasser über weifser Unterlage sich höchstens noch ein rötlicher Schimmer zeigt, darauf durch Auftröpfeln einer konzentrierten wässrigen Malachitgrünlösung, die $^1/_2$—1 Minute bleibt und dann abgespritzt wird, gegengefärbt."

Bliesener (D. Militärärztl. Ztschr., Jahrg. XVIII, H. 9 p. 406—409; ref. Cbl. f. Bakt. 1890 p. 73).

Die fixierten Deckgläschen werden, die Präparatseite nach oben, auf ein Stückchen Blech von etwa 5—6 cm im Quadrat gelegt, welches sich wagrecht an einem 15—20 cm hohen Stativ befestigt findet. Mit der Pipette werden 5—6 Tropfen des bekannten Ziehl'schen Karbolfuchins auf das Deckglas gebracht und dann das Blech mit der Flamme so lange erwärmt, bis die ersten Blasen aufsteigen. Nun wird die Flamme entfernt und noch etwa eine Minute lang gewartet. Es folgt Abspülen im Wasser und Gegenfärben der Deckgläschen in einer Lösung, bestehend aus (1,5 Methylenblau, 100,0 Aqu. dest. und 25,0 Acid. sulf.), auf der die Gläschen 50 Sek. schwimmen. Dann wird in Wasser abgespült und untersucht.

(Also einfach Gabbet'sches Verfahren, cf. dieses.)

Bonner Militär-Medizinal-Abteilung (Deutsche militärärztl. Ztschr. 1885 Hft. 1, referiert Cbl. f. med. Wissensch. 1885 Nr. 15 p. 264 von Gärtner).

1. „Es werden dem Sputum weifs gefärbte Bröckel entnommen, auf Deckgläschen verrieben und lufttrocken gemacht. Inzwischen wird

2. Anilinwasser angefertigt: Man füllt ein Reagenzgläschen zur Hälfte mit Wasser, giefst so viel Anilinöl hinein, dafs die untere Kuppe des Gläschens gerade gefüllt ist, schüttelt tüchtig und filtriert in ein Uhrschälchen, in welches man noch 8—10 Tropfen einer konz. alkoholischen Fuchsinlösung (oder Methylviolett bezw. Gentianaviolett) eintröpfelt.

3. Das lufttrockene Präparat wird durch die Flamme gezogen, mit der bestrichenen Seite auf die ad 2 bereitete Flüssigkeit gelegt, und letztere über der Flamme erhitzt, bis gerade Dampf sich entwickelt — etwa $^1/_2$ Min.

4. Das Präparat wird nun in salzsauren Alkohol (1 Teil reiner Salzsäure auf 100 Teile 90 prozentigen Alkohols) gelegt bis zur fast völligen Entfärbung — Zeitdauer $^1/_2$—1 Minute.

5. Dann wird mit Wasser abgespült und das Deckgläschen bei Fuchsinfärbung in Malachitgrünlösung (gesättigte wässerige Malachitgrünlösung und Wasser âà) oder bei Violettfärbung in Bismarckbraun- (Vesuvin-)Lösung etwa 1—2 Minuten gefärbt, abgewaschen, mit Fliefspapier sorgfältig getrocknet, in Glycerin bezw. Kanadabalsam gebettet und untersucht."

Brieger (ref. v. Klemperer D. Med. Wschr. 1885 Nr. 47 p. 810).

Färbung in heifser Lösung von gleichen Teilen wässriger oder alkoholischer Lösung von Fuchsin resp. Methylv. etc. und Thymolwasser (1 : 1000). Entfärbung in Eisessig kurze Zeit oder in konz. Salzs. (Klemperer ibid.) 5—10 Sek., in Wasser abspülen.

(Vorzug der Thymolfarbstofflösung: fixiert Farbstoff in Bacillen leichter, schneller und intensiver als selbst das Anilinwasser; hält sich lange unzersetzt, braucht nicht jedesmal filtriert zu werden.)

Coze et Simon (Journ. de Microgr. 1884 p. 235).

Färbung in ihrem Anilinfuchsin, resp. Anilingentiana bei ca. 40 ^{0} in bedeckter Flüssigkeit ca. $^1/_2$ Stunde schwimmen lassen. Dann in Säure (Liqueur acide, s. d.) allerhöchstens 2 Minuten. Das Präparat wird darin schön grün. Spülen in viel Wasser. 2—3 Minuten Nachfärben in Chrysoidinlösung (s. d.), Abspülen in Wasser, Trocknen, Balsam.

Czaplewski I (Mitt. a. Dr. Brehmer's Heilanstalt, Neue Folge 1890 p. 149).

„Nach Fixierung des Präparates fafst man dasselbe, die beschickte Seite nach oben, mit der Kühne'schen Pinzette und tropft mit dem Tropfenzähler so viel Karbolfuchsin auf, dafs die Flüssigkeit schwappend bis zum Rande reicht, ohne überzufliefsen. Darauf erhitzt man das Präparat über kleiner Flamme bis zum schwachen gleichmäfsigen Sieden, wobei man Sorge trägt dafs das Deckglas stets mit Flüssigkeit bedeckt bleibt. Dann läfst, man das überschüssige Karbolfuchsin abtropfen und badet sofort (ohne Abspülen!) das Präparat 6—10 mal hintereinander in Fluorescein-Methylenblau (s. d.), indem man es eintaucht und die Flüssigkeit immer wieder langsam über die Oberfläche des Deckglases nach sich zu abfliefsen läfst. Dasselbe wiederholt man ca. 10—12 mal in dem konzentrierten alkoholischen Methylenblau, spült schnell in reinem Wasser ab, legt sofort das Deckgläschen mit der beschickten Seite auf einen reinen Objektträger, drückt das überflüssige Wasser mit einem aufgelegten Stückchen Fliefspapier ab, entfernt Farbstoffniederschläge mit einem feuchten reinen Tuch und gibt schliefslich einen Tropfen Cedernöl auf die reine Rückseite. Hiermit ist das Präparat zur sofortigen Untersuchung fertig. Der ganze Prozefs kann in 2—3 Minuten beendigt sein."

(Vorteile: Schnelligkeit, Vermeidung von Verlusten gefärbter Tuberkelbacillen. Distinkte Färbung fremder Mikrobien. Nachteil: Anwendbar meist nur für Sputa und müssen diese dünn und gleichmäfsig verrieben sein.)

II. Färbung 2—5 Minuten in Karbolfuchsin ohne Erwärmen, dann Entfärbung in v. Ebner'scher Entkalkungsflüssigkeit, Abspülen in Alkohol, Nachfärbung 15—20 Minuten in Ehrlich'scher Methylenblaulösung, ev. 2te Entfärbung in essigsäurehaltigem Wasser oder Alkohol, Abspülen in Wasser, Trocknen (Balsam).

(Bringt die im Text erwähnten schwarzen resp. schwarzblauen Körner in roten Tuberkelbacillen zur Ansicht. War die Nachfärbung zu kurz, so sind sie noch nicht gefärbt, dauert sie zu lange, so werden die Bacillen selbst entfärbt und schliefslich teilweise blau. In manchen Präparaten sind diese Körner massenhaft, in manchen sehr spärlich oder fehlen ganz.)

(Auch für Sputa anwendbar!)

III. Färbung in Karbol- resp. Anilinfuchsin mehrere Stunden in der Wärme, demnach 24 St. in der Kälte, Entfärbung mit v. Ebner'scher Flüssigkeit und Natriumbisulfit (konz. wässr. Lösung), bis Präparat annähernd farblos wird. Spülen in viel Wasser. Nachfärbung in Kühne's Karbolmethylenblau 20 Min. War Entfärbung nicht genügend oder Nachfärbung zu schwach und zu kurz, so sind auch die Tuberkelbacillen noch rot oder violett. Im gelungenen Präparat müssen die im Text erwähnten Körner rot in blauen Bacillen erscheinen.

(Nur für Tuberkelreinkulturen anwendbar resp. Kavernenbröckel etc.)

Dettweiler und **Meifsen** (Berl. Klin. Wschr. 1883 Nr. 7 p. 97).

Anilinmethylviolett 2—3 St. in Kälte oder $^1/_4$—$^1/_2$ St. in der Wärme. Salpeters. (1 : 2 so stark, „dafs die hineingebrachten Präparate in wenigen Augenblicken farblos erscheinen", wenn nicht, noch einige Tropfen Acid.

nitric. fum. zugefügt). Zur Nachfärbung in gesättigte Fuchsinlösung eben eingetaucht und abgespült.

Die elastischen Fasern färben sich dabei rot!

E. Dineur (Bulletin de la société belge de microscopie T. XV ref. Cbl. f. Bakt. 1890 p. 382).

Einige Tropfen des Auswurfs in Uhrglas mit 2—3 Tropfen konz. alkoh. Fuchsin und 1 Tropfen Karbolglycerin (25,0 Karbol : 100,0 Glycerin) verrührt und das Gemisch einige Minuten auf 80—100° C. erhitzt, wobei es sich eindickt. Hiervon ein stecknadelkopfgroſses Teilchen auf den Objektträger in Glycerin (pur. oder 1 : 1) gebracht und Deckglas aufgelegt. An den Rand bringt er einen Tropfen verdünnte Schwefelsäure (1 : 5) und verfolgt ihre Wirkung unter dem Mikroskop. „Man sieht dann nach und nach erbleichen und verschwinden die verschiedenen morphologischen Bestandteile: weiſse Blutkörper, Epithelialzellen, verschiedene Bakterien etc., der Bacillus allein widersteht eine hinreichend lange Zeit und erscheint schön rot gefärbt auf farblosem Grunde.“

(Jedenfalls nicht nachahmenswert.)

Dor (Lyon médic. 1888 Nr. 18 Avril 29 cit. nach Ref. Baumgarten, Jahresber. 1888 p. 167).

Im wesentlichen Gabbet's Färbung, doch hält er es für vorteilhafter, G.'s 2 Lösungen in 4 zu zerlegen.

1.	Fuchsine diamant, gros cristaux, rouge Magenta	10,0
	Alcool absol.	100,0
2.	Acid. carbol. cryst.	5,0
	Aqu. destill.	100,0
	Alkohol. einige Tropfen zum Auflösen.	
3.	Bleu de méthyle sombre, gros bleu B. C.	3,0
	Aqu. destill.	100,0
4.	4% Schwefelsäure.	

Vor dem Gebrauch mischt man 1 und 2 im Verhältnis von 1 : 10 und 3 und 4 im Verhältnis von 1 : 1, um Gabbet's Lösungen zu erhalten.

Ehrlich I (D. med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270).

Mit Präpariernadeln aus Sputumpartikelchen entnommen, zwischen 2 Deckgläsern von 0,1—0,12 mm Dicke platt gepresst, beide Deckgläser auseinandergezogen, lufttrocken werden lassen, dreimal durch Flamme ziehen, um das Eiweiſs zu fixieren.

Färbung: Anilinfuchsin oder -methylviolett $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde schwimmend, entfärben in Salpetersäure (1 : 2 Vol. Wasser) einige Sekunden, bis Präparat weiſs wird (unterdessen heben sich gelbe Wolken von dem Präparate ab). Alles ist jetzt entfärbt bis auf den Bacillus (nämlich wenn jetzt in Wasser oder nach Wasserabspülung untersucht wird! Verf.) Wegen der Schwierigkeit der Einstellung Nachfärbung des Grundes gelb resp. blau.

(Die Präparate sind, wie Ehrlich selbst hervorhebt, intensiver gefärbt und der Bacillus erscheint gröſser als nach der alten Koch'schen Methode. Der Untergrund ist zudem heller, also die Bacillen mit schwächerer Vergröſserung wahrnehmbar. Möglicherweise werden auch mehr Bacillen dadurch zum Vorschein gebracht.)

Ehrlich II (Charité-Annalen 11. Jahrg. 1886 p. 136).

Färbung in Anilinfuchsin 2—4 Stunden. Entfärbung in Sulfanilsalpetersäure (kurzes Eintauchen) und reichliches Abspülen in Wasser; 4—5—10 mal wiederholen „so lange, bis das Präparat so gut wie vollkommen entfärbt worden ist". Abspülen in Wasserstrahl. Nachfärbung mit dünner Methylenblaulösung, Abspülen in Wasser. Einschlufs auf heifser Kupferplatte (100 °) in durch Erhitzen verdicktem Balsam.

(Sehr sichere Methode.)

III. für Spezialfälle bei sehr schwieriger Diagnose, z. B. bei Geschwürsekreten, vielleicht auch dicken hämorrhag. Sputen etc. Charité-Annalen p. 137.

1. „Behandlung der Präparate mit wässriger Fuchsinlösung durch 24 Stunden."

2. „Fuchsinanilin durch 24 Stunden."

3. „Kurzes Spülen mit Alkohol, um die oberflächliche, anhaftende Anilinschicht zu eliminieren, welche die später notwendige Diffusion erschweren würde, oder kurze Behandlung mit Sulfanilsalpetersäure und energisches Waschen mit Wasser."

4. „Einlegen der noch mit intensiv rotem Gewebsparenchym bedeckten Deckgläschen in eine konzentrierte Natriumbisulfidlösung durch 24—36 Stunden."

5. „Einlegen in eine Schale kurz vorher gekochten Wassers, in dem das überschüssige Sulfid, das durch Krystallbildung stört, durch Diffusion entfernt wird."

6. „Trocknen der Präparate und ohne Nachfärben in Kanadabalsam zu untersuchen."

(„Nach dieser Methode pflegen die Gewebspartikelchen einen leicht roten Hauch zu haben, der jedoch die Erkenntnis der dunkelrot gefärbten Bacillen in keiner Weise verhindert.")

Ehrlich's Versuchsfärbungen (Charité-Annalen 1886 Jahrg. 11 p. 132).

a) Zur Prüfung der tintoriellen Kraft der benutzten Lösung:

1. Färbung in heifser wässriger Methylgrün- oder Methylenblaulösung. Nachfärbung heifse wässrige Fuchsinlösung.

Alle Bacillen intensiv rot.

2. Färbung mit Methylenblau-Anilin, kurze Essigsäurebehandlung; heifses Fuchsinwasser.

Alle Bacillen rot.

3. Färbung mit Anilinmethylenblau, dann mit Karbolfuchsin.

Alle Bacillen rot (p. 131).

b) Zur Prüfung, welche Tuberkelbacillen sich schon in wässrigen Lösungen von Fuchsin umfärben:

1. Karbolmethylenblau, Fuchsinwasserbehandlung, Salpetersäureentfärbung. Prachtvolle Präparate. Die Mehrzahl der Bacillen intensiv blau, relativ spärliche rein rot, einige wenig violett.

2. Karbolmethylgrün 12 Stunden, dann Fuchsinwasser, Entfärbung sowohl durch Natriumbisulfit, als auch durch Salpetersäure. Beide Präparate zeigen spärliche rote, sehr reichliche blassgrüne Bacillen.

3. Karbolmalachitgrün über Nacht, Fuchsinwasser, Entfärbung durch

Natriumbisulfit. Etwa die Hälfte der Bacillen ist intensiv rot, die andere schwach grün gefärbt.

4. Karbolcyanin 12 Stunden; Entfärbung durch Essigsäure; Behandlung mit Wasser und dann mit wässriger Fuchsinlösung, Entfärbung durch Salpetersäure. Die meisten Bacillen sind blau, spärlichere intensiv rot.

5. Fuchsinwasser 2 Tage, Entfärbung durch Natriumbisulfit 1 Tag. Anilinmethylenblau. Salpetersäure u. saures Chrysoidin.

(Sehr schöne mäfsig reichliche, rein rote, aufserordentlich zahlreiche blaue Bacillen.)

Elliott, J. L. (Philadelphia Medical Times 1887 p. 662; ref. Cbl. f. Bakt. 1887 Bd. II p. 757).

Färbung in Anilinwasserfuchsin; Entfärbung in einer 20 % igen Lösung von Salzsäure in Alkohol, ohne nachfolgende Kontrastfärbung.

van Ermengem (Manuel technique de la Microbiologie 1887 p. 130, cit. nach Hüppe, Methoden p. 86).

Vorfärbung mit Fuchsin, Differenzierung in einer Mischung von 50 ccm Eisessig und 20 ccm einer alkoholischen Nigrosinlösung.

Ernst I (Methoden zum Nachweis der kernartigen „sporogenen Körner“).

„Auf die in der üblichen Weise durch die Flamme gezogenen, noch warmen Deckgläschen wird starke alkalische Löffler'sche Methylenblaulösung (s. d.) geträufelt und zwar ziemlich reichlich. Dann an einer Ecke mit der Pinzette gefafst, wird das Gläschen eine halbe Minute über der lichtlos brennenden Bunsen'schen Flamme hin und her bewegt. Nur soweit darf die Erwärmung getrieben werden, als leichte Nebel von der Färbeflüssigkeit aufsteigen; sowie letztere ins Sieden kommt, ist das Präparat unrettbar verloren. Mit einer grofsen Sorgfalt habe ich daher die Gläschen der Flammenspitze nur auf 15—20 cm genähert“ (Ztschr. f. Hyg. IV p. 25). Nachfärbung sehr vorsichtig in wässrigem Fuchsin oder durch $^1/_2$ Stunde Schwimmenlassen auf schwacher wässriger Saffraninlösung.

(Ernst, Ztschr. f. Hyg. V p. 473.)

II. Färbung in D e l a f i e l d ' s Haematoxylin (nur für Reinkultur oder Kavernenbröckel).

In vielen Tuberkelbacillen erscheinen nach diesen Methoden blaue resp. schwärzlich violette „kernartige“ Körper. Die ganz ungefärbten Bacillenexemplare sind auch körnchenfrei.

Eschle (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 30 p. 441).

Anilinfuchsin 2 St., Entf. in Salpetersäure. Durchziehen durch eine Malachitgrünlösung.

B. Fränkel (Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 194—195).

I. Färbung schwimmend auf einem (modific.) erwärmten Anilin- oder Toluidinwasser-Methylviolett oder -Fuchsin 2 M. oder 5—10 M. Entfärben in den von ihm angegebenen sauren Lösungen von Methylenblau oder Malachit, resp. Aethylgrün oder Vesuvin (bei Blau ca. 1, bei Braun $1^1/_2$ bis 2 M. Man kann aber nach ihm die Deckgläschen auch länger, 5 M. und darüber, in der Flüssigkeit liegen lassen, „ohne dafs der Bacillus seine

Farbe wechselt".) Man nimmt dazu ca. 3—5 ccm Lösung. Abspülen in Wasser oder schwachsaurem (1 % Essigs.) 50 %igen Alkohol, gut trocknen zwischen Fliefspapier, dann noch einmal kurze Flamme!

(Färbungsdauer ca. 4 Min.) (Vorzug: Schnelligkeit! Nachteil: Entfärbung mancher Bacillen!!)

B. Fränkel II (Einzeitig polychromat. Färbungen). Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 195).

Konz. alkoh. Lösung gleicher Teile Fuchsin und Methylenblau zu der aufgekochten Anilin- oder Toluidinwasser-Färbung 5 Minuten, Auswaschen in 50 %igem. 1 % Essigsäure enthaltendem Alkohol.

T.-Bac. rot, Grund blau.

(Um zu beweisen, dafs die Gibbes'sche Färbung auch bei gleichen Teilen Fuchsin u. Methylenblau gelingt.)

B. Fränkel III (ibid).

Konz. alkoh. Lösung von 3 T. Aethylgrün und 1 T. Fuchsin zu aufgekochtem Anilin- oder Toluidinwasser. 5 M. färben. auswaschen in 50 %igem, 1 % Essigs. enthaltendem Alkohol. T.-Bacillen grün, Grund rot.

(Nachahmung der Gibbes'schen Färbung. Theoretisches Interesse.)

Gabett (The Lancet 1887 Nr. 3319 p. 757. ref. v. Ernst, Korrespondenzbl. für Schw. Ärzte XVII 1887 Nr. 22, ref. Weichselb., Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 697.)

Färbung 5 Minuten in Karbolfuchsin, Entfärbung in Schwefelsäuremethylenblau.

Färbung in Lösung I (1 T. Magentarot-Fuchsin mit 100 T. 5 %iges Karbolwasser. 10 T. absoluter Alkohol). 2 Minuten (Ernst).

(Die von Gabett vorgeschriebene Erwärmung ist nach Ernst überflüssig.) Abspülen in Wasser.

Entfärben und Nachfärben in Lösung II (100 T. 25 %iger Schwefelsäure, 1—2 gr. Methylenblau). Abspülen in Wasser, Trocknen, Balsam.

Die Methode beruht auf dem Prinzip der B. Fränkel'schen Methode I, ist aber durchaus selbständig gefunden und in so weit eine Verbesserung, als statt der unzuverlässigen Salpetersäure Schwefelsäure benutzt wird.

(Vorzüge: Schnelligkeit, Reinheit der Kontrastfärbung, daher Schärfe des Bacillenbildes. Haltbarkeit. Sehr bequem für die Praxis. Farblösungen sehr einfach zu bereiten. Doch ist die Frage, ob stets alle vorhandenen Tbb. zur Anschauung gebracht werden, zumal wenn die Anfärbung nur 2 Minuten in der Kälte geschieht! Verschiedentlich habe ich von Klagen über Entfärbung von Tuberkelbacillen auch bei dieser Methode gehört.)

Die Originalvorschrift Gabett's lautet (Briefkasten von The Lancet vom 9. April 1887 p. 757 cit. nach B. Fränkel, D. Med. Wschr. 1891 Nr. 15 p. 552):

„Rapid Staining of the Tubercle Bacillus To the Editor's of the „Lancet".

Sirs, — I can strongly recommend the following mode of staining the tubercle bacillus in cover-glass preparations for clinical purposes. It is a slight modification of Neelsen's method. The stain which in my opinion is preferable to any of those containing solutions of aniline, is made by dissolving one part of magenta (unser Fuchsin) in 100 of a 5 per cent. watery solution of carbolic acid, and adding 10 of absolute alcohol. A suffi-

ciency of this fluid is poured into a watch-glass, and heated on a retort-stand over a spirid lamp till steam rises freely and the temperature is not very far from the boiling point. The cover-glasses, prepared in the usual way, are then floated in the stain for two minutes; if the right temperature has been reached this is quite long enough; the watch-glass should be covered. In Neelsen's method the preparations are than decolourised with acid, and subsequently stained with blue as a contrast. I find that these processes may be very conveniently combined by dissolving methylene blue in 25 per cent. sulphuric acid till a deep colour is obtained, and immersing the cover-glasses for one minute in this immediately after their removal from the magenta. They are then rinsed in water, dried, and mounted in balsam. The whole process of staining and mounting occupies about six minutes according to my experience. Possibly this method may have been already suggested; if so, it has escaped my notice.

I am Sirs, yours faithfully Henry S. Gabett M. D.

Eastbourne, March 31st 1887."

Gaffky („Anleitung zur Untersuchung von Sputum und gehärteten Organen auf Tuberkelbacillen". Kurzgefafste Essays über wichtige Kapitel aus der medizinischen Praxis. Sammlung der in den früheren Jahrgängen des Reichs-Medizinal-Kalenders enthaltenen Abhandlungen, p. 63).

Man stellt vor sich:

1. „Ein Glasschälchen oder Bechergläschen mit der Salpetersäuremischung." (s. d.)

2. „Ein desgl. mit Spiritus, welchen man mit etwas destilliertem Wasser verdünnt, so dafs die Mischung etwa 60—70 % Alkohol enthält."

„Nun fafst man das präparierte und bereits erhitzte Deckgläschen, die Sputumschicht nach oben gekehrt, an einer Ecke mit der Pinzette, bringt mit Hilfe einer Pipette einige Tropfen T. F." (s. Karbolfuchsin) „auf die Sputumschicht, so dafs das ganze Deckgläschen mit der Farbflüssigkeit bedeckt ist, und erwärmt das Deckgläschen vorsichtig über der Flamme. Der richtige Grad der Erwärmung ist erreicht, wenn die Flüssigkeit zu dampfen beginnt. Mindestens eine Minute lang soll sie in leichtem Dampfen erhalten bleiben, wobei sich in der Regel ein feines Häutchen an der Oberfläche bildet. Eintrocknen darf dabei die Flüssigkeit selbst an den Ecken des Deckgläschens nicht; eventuell ist mit der Pipette noch etwas T. F. nachzufüllen. — Nach beendeter Erwärmung läfst man die Farbflüssigkeit abfliefsen, spült das Deckgläschen mit Wasser ab und taucht es für einige Augenblicke, jedenfalls aber nicht länger als 2 Sekunden, in die Salpetersäuremischung. Hierauf bewegt man es in dem bereit stehenden Spiritus einige Male hin und her, wobei die Sputumschicht ihre rote Färbung fast vollständig verliert. Nunmehr träufelt man mit einer Pipette einige Tropfen Gr. F. auf die Sputumschicht, welche sich dabei wegen des ihr noch anhaftenden Spiritus erst nach einigen Augenblicken benetzt. Nach etwa eine Minute langer Einwirkung spült man schliefslich die Farbflüssigkeit wiederum mit Wasser ab. — Hiermit ist das Deckgläschen, welches während des ganzen, nur wenige Minuten dauernden Verfahrens mit der Pinzette festgehalten wurde, zur Untersuchung fertig. Man bringt es entweder mit einem Tröpfchen Wasser auf einen Objektträger, oder lässt es, falls man es konservieren will, trocken werden und legt es direkt in Kanadabalsam ein." „In so behandelten Sputumpräparaten müssen sich etwa vorhandene Tuberkel-

bacillen rot gefärbt aufs schärfste von dem grün gefärbten Grunde, insbesondere auch von den grün gefärbten übrigen Bakterien abheben. — Anfängern wird es nicht selten passieren, dafs in dem Präparat sich Stellen finden, welche noch die rote Farbe in mehr oder weniger grofser Ausdehnung zurückgehalten haben. An diesen Stellen war die Sputumschicht zu dick aufgetragen. Sie eignen sich für den Ungeübten nicht zur Untersuchung."

Gibbes I. (The Brit. med. Journ. 1882 Oct. citiert nach Weichselbaum. Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 694).

Färbung in Magentarot-Anilin während 15—20 Min. Entfärbung in Salpeters. (1:2). Nachfärbung in einer mit Thymol versetzten wässerigen Chripoidinlösung.

(Vorteil: Ganz schwache Systeme sollen die Bacillen deutlich nachweisen (?), Plaut. Färbungsmeth. p. 17.)

II. (einzeitig polychromatische Färbung). (The Lancet 5. Mai 1883 p. 771. Ref. z. B. Journal de Micrographie 1884 Nr. 4 p. 24. Berl. Klin. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 195.)

Rp. salzs. Rosanilin 2,0
Methylenblau 1,0

verreiben in gläsernem Mörser, auflösen in einer Lösung von

Anilin 3 ccm
Alkohol rektif 15 ccm

welche man langsam zu den Farben fügt, bis sie vollständig aufgelöst sind. Dann setzt man dest. Wasser 15 ccm hinzu und bewahrt in Flaschen mit Glasstöpsel.

Eine von B. Fränkel von der Firma R. & T. Beck London bezogene Originallösung sah bei auffallendem Lichte schwarz, bei durchfallendem Lichte violett aus. Bei Betrachtung dünner Schichten merkte man, dafs blau und rot nebeneinander in der Flüssigkeit vorhanden waren.

Einige Tropfen der Lösung im Reagenzglas kochen, in Uhrschälchen giefsen und Deckglas 5 Min. darin färben. Entfärben in Methylalkohol resp. Alkohol (nach Fränkel), bis kein Farbstoff mehr abgeht. Grund blau, Bacillen rot.

(Vorteile: Einfachheit der Methode, Wegfall der Säure. Die accidentellen Mikrobien werden vorzüglich distinkt gefärbt. Nachteil: Tbb. scheinen teilweise in blau umgefärbt zu werden und überhaupt in wenigen Exemplaren zum Vorschein zu kommen.)

Gram I (Fortschr. d. Med. 1884 Nr. 6 p. 186—187).

Färbung in Ehrlich'scher Anilin-Gentianaviolettlösung 12—24 Stunden (für andere Mikrobien genügen 1—3 Min.) „ohne oder nach einer leichten Abspülung mit Alkohol übertragen", „in eine Lösung von Jod-Jodkalium in Wasser (Jod 1,0 — Jodkalium 2,0 — Wasser 300,0)" auf 1—3 Min. „Dabei tritt in der Jodlösung ein Niederschlag ein", das Deckglas wird schwarz purpurrot. „Dieser purpurrote Farbstoff ist in Wasser nicht lösbar, löst sich dagegen sehr leicht in Alkohol." Abspülen in Alkohol bis zur vollständigen Entfärbung. —

(Man sieht dann die Kerne und das Grundgewebe nur schwach gelblich [vom Jod] gefärbt, während die Schizomyceten intensiv blau [oft fast schwarz] hervortreten.)

Behandelt man die Präparate nach der Jodbehandlung mit 3⁰/₀ igen Lösungen von Salz- und Salpetersäure in Alkohol, „dann entfärben sich die Kerne sehr schnell, dagegen bleiben die meisten Schizomyceten intensiv gefärbt". Sie geben jedoch die blaue Farbe ab und werden hellbraun (mit Ausnahme der blau bis schwarz bleibenden Tuberkelbacillen) bei kurzer Nachfärbung mit verdünnten wässerigen Lösungen von Bismarckbraun. (Tuberkelbacillen sehr intensiv gefärbt, aber häufig gekörnt, so dafs sie oft wie Coccenketten aussehen.)

II. (Modifiz. nach Biedert und Sigel, für Schnitte angegeben, aber wohl auch für Deckgläschen. Virch. Arch. 98 p. 135.)

Färbung in dem modifiz. stärker konzentrierten Anilingentiana 3 Min. resp. um ganz sicher zu gehen 12—18 St. Kurzes Spülen in Alkohol, Einlegen in Jodjodkalilösung (0,5 Jod : 1,0 Jodkali : 150,0 Aqu. dest.) 2 Min. Entfärbung in absol. Alkohol, der lange einwirken und wiederholt gewechselt werden mufs. Eine wirkliche Entfärbung des Blau bringt man nach mehr als 12stündigem Einliegen nur durch vorübergehendes Zwischen-Einlegen in Essigsäure zu Stande; dieser Prozedur widersteht dann in der Regel nur die Färbung der eigentlichen Tuberkelbacillen, welche dadurch in ausgezeichneter Weise zu Gesicht kommen. Selten widerstehen der Essigsäurewirkung auch von den gewöhnlichen Tuberkelbacillen abweichende Organismen.

Die schwierigere Entfärbbarkeit der Präparate, gegenüber der von Gram angegeb. urspr. Methode, hängt nach Biedert und Sigel wohl mit der gröfseren Konzentration der benutzten Färbeflüssigkeit zusammen.

III. Modifiz. nach Gram-Kühne (Monatshefte f. prakt. Dermatol. 1887. Ergänzungsheft III, ref. Weichselbaum Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 722—723).

Färbung eine Stunde in Mischung von konzentrierter wässriger Krystallviolettlösung und 1⁰/₀ wässrige Ammonium carbonicum-Lösung, Abspülen mit Wasser. 2—3 Minuten in Jodjodkaliumlösung, Abspülen mit Wasser und schliefslich in konzentr. alkoh. Lösung von Fluorescin bis fast zur Entfärbung.

(Für Schnitte angegeben.)

IV. Modifiz. nach Gram-Weigert (Weigert, Fortschr. d. Med. 1887 Nr. 8, ref. Weichselbaum Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 722).

Färbung in Gentianaviolett-Anilinwasser — 24 St., Abspülen in Wasser, Trocknen durch Betupfen, Behandlung mit Jodjodkaliumlösung, Abtupfen, Auftröpfeln von Anilinöl und Entfernung des letzteren durch Xylol.

(Für Schnitte urspr. angegeben.)

Günther, Carl („Einführung in das Studium der Bakteriologie" 1890 p. 166).

Das bereits fixierte Deckglas bringt man

1. „mit der Präparatenschicht nach unten auf die Oberfläche frisch bereiteter Ehrlich'scher Anilinwasserfuchsinlösung, welche in ein Uhrschälchen eingefüllt ist (Filtrieren ist nicht notwendig) und das Schälchen fast vollständig erfüllt. Sinkt das Gläschen in der Flüssigkeit unter, so schadet dieses nichts.

2. Das Schälchen wird mit starker Pinzette am Rande erfafst und

über kleiner Flamme in der oben (s. Text) geschilderten Weise bis zur Blasenbildung der Flüssigkeit erhitzt.

3. Das Schälchen wird jetzt hingestellt und bleibt eine Minute lang ruhig stehen.

4. Das Deckglas wird mit kleiner Pinzette aus der Farbe genommen, umgedreht, so dafs die Präparatenschicht nach oben sieht, und in ein Uhrschälchen mit 3%igem Salzsäurealkohol (s. d.) gelegt; hierin wird das Deckglas eine Minute lang hin und her, auf und ab bewegt.

5. Das Deckglas wird mit der Pinzette aus dem Säurealkohol genommen, und es wird nun durch einen Wasserstrahl zunächst die Flüssigkeit zwischen den Branchen der Pinzette weggespült, dann das Gläschen selbst beiderseitig abgespült.

6. Aufträufeln weniger Tropfen verdünnter wässriger (oder wässerig-alkoholischer) Methylenblaulösung mit der Pipette. Die Färbung soll hier nur ganz gering werden, damit die Bacillenfärbung nicht hier und da durch die Grundfärbung verdeckt werde.

7. Abspülen in Wasser. (Zunächst werden wieder die Pinzettenbranchen ausgespült.)

8. Das Deckglas wird mit den Fingern erfafst, die Präparatenseite kräftig abgeblasen, die leere Seite mit Hilfe eines Läppchens abgewischt.

9. Dreimaliges Ziehen durch die Flamme, wie wenn das Präparat noch einmal fixiert werden sollte.

10. Aufkitten mit Xylolbalsam auf den Objektträger."

Guttmann I (Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 52 p. 791).

Nach Fixieren 10 Min. in Guttmann's Anilinmethylviolett, entfärben (kaum 5 Min.) in unverdünnter offizineller Salpetersäure bis nach Überspülen mit dest. Wasser keine blaue Farbe mehr hervortritt (geringe Residuen verschwinden bei der Nachfärbung; nur bei sehr reichem Bacillengehalt bleibt das Präparat auch nach langd. Salpeters. blaufleckig), Abspülen mit Wasser, 1 Min. 2% wässrige oder konzentrierte Bismarckbraunlösung. Abspülen, Trocknen, Glycerin oder Balsam.

Er behandelt meist 4 Präparate auf einmal.

II. Färbung (5 Min. in warmer oder 1/4 St. — 12—24 St. in kalter) Anilinfuchsin- oder Methylviolettlösung. Entfärbung in 1 Min. in reinem salpeters. Alkohol, Nachf. in konz. wässrigem Methylenblau resp. Vernoin oder Bismarckbraun (ca. 1/2 Min.). Abspülen in Alkohol. (Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 14 p. 221.

Martin Herman (Ann. de l'Inst. Past. 1889 p. 160).

Färbung in Kühne's Krystallviolettlösung in der Wärme, 1 Minute oder länger. Entfärbung in Salpetersäure (1 : 10) ca. 4—5 Sekunden, flüchtig abspülen in Alkohol von 35°, trocknen über der Flamme; Balsam. Will man Nachfärbung, so bade man das Präparat nach Säure- und Alkoholbehandlung in reiner alkohol. Eosinlösung (s. d.) in 1/2 Minute; Abspülen flüchtig in Alkohol, trocknen; Balsam.

(Elegante Bilder, aber keine differenzierte Grundfärbung.)

P. Kaatzer (Die Technik der Sputumuntersuchung auf Tuberkelbacillen. Wiesbaden 1884. p. 15).

Färbung in Gentianaviolettanilin, welches (auf 10 Tr. frisches Anilin-

wasser ca. 15 Tr. konz. alkoh. Gentianaviolett, soviel daſs eine starke Opalescenz eintritt) 24 St. schwimmend oder einige Minuten in Porzellanschale auf Dreifuſs mit Drahtnetz über Spiritusflamme erhitzt, bis sich springende knallende Bläschen auf der Flüssigkeit bilden.

Entfärbung nach Abtupfen auf Flieſspapier in salzs. Alkohol (s. o.) $^1/_2$—1 Minute, dann in 90 $^0/_0$ Alkohol bewegen bis der letzte Rest der blauen Farbe verschwunden ist (1—2 Minuten). Trocknen auf Flieſspapier ev. unter Blasen mit einem Glasrohr. Nachfärbung durch Betropfen mit 4—5 Tr. konz. wässriger Vesuvinlösung, 2 Min. Abspülen in dest. Wasser, Trocknen, untersuchen in Wasser oder Balsam.

R. Koch I (Berl. Klin. Wschr. 1882 Nr. 15 p. 221 ff.).

Alkalisches Methylenblau (Koch) 20—24 St. oder $^1/_2$—1 St. bei 40^0 C. im Wasserbade. „Die Deckgläschen werden hierauf mit einer konzentrierten wässrigen Lösung von Vesuvin, welche vor jedesmaligem Gebrauche zu filtrieren ist, übergossen und nach ein bis zwei Minuten mit destilliertem Wasser abgespült. Wenn die Deckgläschen aus dem Methylenblau kommen, sieht die ihnen anhaftende Schicht dunkelblau aus und ist stark überfärbt, durch die Behandlung mit dem Vesuvin geht die blaue Farbe derselben verloren und sie erscheint schwach braun gefärbt.“

„Unter dem Mikroskop zeigen sich nun alle Bestandteile tierischer Gewebe, namentlich die Zellkerne und deren Zerfallsprodukte braun, die Tuberkelbakterien dagegen schön blau gefärbt. Auch alle anderen bis jetzt von mir daraufhin untersuchten Bakterien, mit Ausnahme der Leprabacillen, nehmen bei diesem Färbungsverfahren eine braune Farbe an. Der Farbenkontrast zwischen dem braun gefärbten Gewebe und den blauen Tuberkelbakterien ist so auffallend, daſs letztere, welche oft nur in sehr geringer Zahl vorhanden sind, trotzdem mit der gröſsten Sicherheit aufzufinden und als solche zu erkennen sind.“

II (Mitt. d. K. Ges-Amt. Bd. II p. 8—10).

„Deckglaspräparate in möglichst dünner Schicht getrocknet, nach dem Trocknen dreimal in der Flamme erhitzt.“

„Färbung mit Anilinmethylviolett (s. d.) (oder Fuchsin) 12 St. mindestens oder auf Farbe schwimmend, welche bis zum einmaligen Aufsieden erhitzt wird und danach noch 10 Minuten.“ (Besser aber längere Zeit in der Kälte!)

„Behandeln der Präparate mit verdünnter (1 : 3) Salpetersäure einige Sekunden lang.“

„Spülen in 60 $^0/_0$ Alkohol während einiger Minuten (für Deckgläser genügt mehrmaliges Hin- und Herbewegen in Alkohol).“ Nachfärben in verdünnter Vesuvinlösung (oder Methylenblau) einige Minuten lang.

Abspülen in Wasser und untersuchen oder trocknen und Kanadabalsam.

(Die Präparate können auch gleich nach Salpetersäure und Alkohol mit Wasser abgespült und untersucht werden. Die Methode ist in der Hand des Geübten ganz sicher, doch kann sie „in der Hand des noch nicht Geübten dadurch fehlerhaft werden, daſs wenn die Einwirkung der Salpetersäure über die gebotene Kürze hinaus statthat, auf diese Weise Bacillen zerstört und daher in bacillenarmen Präparaten kaum gesehen werden“ [P. Guttmann, Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 14 p. 221]. Starke Säure nicht länger wie 5 Sekunden wirken lassen [Guttmann ref. D. Med. Wschr. 1884 Nr. 12 p. 188].

Auf die Reinheit der Salpetersäure ist zu achten!)

Kühne I (Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bakterien im tierischen Gewebe. Leipzig 1888, p. 29.)

Es wird drei Minuten in Karbolfuchsin gefärbt, dann 30$^0/_0$ Salpeter-

säure ausgezogen, in 60% Alkohol übertragen, bis nur noch ein Rosaschimmer nachbleibt, in viel Wasser die Säure vollständig abgewaschen, die untere Fläche des Deckgläschens getrocknet und dasselbe mit der beschickten Seite nach oben auf ein längliches Glasblöckchen gelegt. Ein Tropfen konzentrierter wässriger Methylenblaulösung färbt die beschickte Seite in fünf Minuten blau.

(Die angewandte Säure ist etwas stark. Daher Vorsicht! Nur kurze Säurebehandlung.)

II (Cbl. f. Bakt. 1890 Nr. 10 p. 296).

1. „Beschickung der Deckgläser und Einbrennen."
2. „Färbung in Karbolfuchsin 5 Minuten" (kalt).
3. „Gründliche Entfärbung in 30% Salpeter- oder Schwefelsäure mit nachfolgender Abspülung in Wasser und Trocknung."
4. „Untersuchung in einem Tropfen mit Pikrinsäure leicht gelb gefärbten Anilinöls. Man setzt am besten 2—3 Tropfen einer konzentrierten Lösung von Pikrinsäure in Anilinöl zu einem Blockschälchen reinen Anilinöls hinzu."

(Die Präparate bleiben ca. 1 Woche untersuchungsfähig, wenn das verdampfte Anilinöl durch Zusatz vom Rande aus ergänzt wird. Für Dauerpräparate färbt man dagegen lieber in wässriger Pikrinsäurelösung einige Minuten nach. (Bei Zusatz von 4% Citronensäure lösen sich ca. 2% Pikrinsäure in Wasser.)

(Vorteile: scharfe distinkte Färbung. Nachteile: Verluste von Tuberkelbacillen bei gründlicher Entfärbung in diesen starken Konzentrationen der Säuren. Fehlen der Grundfärbung, daher ermüdender für das Auge. Fehlen der distinkten Färbung des Grundes und anderer Mikrobien.)

Lichtheim (Fortschr. d. Mediz. Bd. I 1883 p. 8).

Färbung in alkoh.-wässriger Lösung von Fuchsin oder Gentianaviolett 36 Stunden, oder kürzere Zeit unter Erwärmen. Weiterbehandlung nach Ehrlich (Methode nicht diagnostisch verwertbar, soll nur beweisen, dafs Färbung auch ohne Anwendung von Beizen in einfach alkoh.-wässriger Lösung möglich).

Loomis (Medical Record Vol. XXXIII 1888 Nr. 28 p. 631, cit. Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. IV p. 282).

Schnellfärbung in heifsem Karbolfuchsin, — Entfärbung und Nachfärbung in Fränkel's Salpetersäure-Methylenblau.

Lübimoff (Cbl. f. Bakteriol. 1888 Bd. III p. 542).

Färbung schwimmend auf heifsem Borfuchsin (s. d.) 1—2 Min. (oder kalt 24 St.). Entfärbung in Schwefelsäure 1 : 5. Abwaschen in Alkohol. Nachfärbung $1\frac{1}{2}$ Min. in gesättigter alkoholischer Methylenblaulösung. Abspülen in Wasser. Trocknen. Einschlufs in Ol. ligni cedron oder in Lösung von Kanadabalsam in Xylol (3 : 1).

(Nicht sehr empfehlenswert, weil die Bacillen ziemlich dünn ausfallen. Verf.)

Lustgarten's Syphilisbacillenfärbung (Wiener med. Jahrbücher 1885, ref. Weichselbaum Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 723).

Färbung in Anilingentiana 12—24 St. kalt oder 2 St. bei 40° C. Abspülen in Alkohol, worauf die Präparate mehrmals auf einige Sekunden

in eine $1\frac{1}{2}$ % Lösung von übermangansaurem Kali und weiter auf einige Sekunden in eine wässerige Lösung von schwefeliger Säure mit darauffolgender Spülung in Alkohol kommen.

Lutz (Zur Morphologie des Mikroorganismus der Lepra, Dermatol. Studien Heft I 1886 p. 88).

Färbung längere Zeit in dünner Anilingentianaviolettlösung (bei gröfserer Konzentration entstehen störende Farbstoffniederschläge) bis zu dunkel blauvioletter Färbung. Dann Entfärbung der Reihe nach in Jodjodkalilösung, absolutem Alkohol mit 10—50 % rauchender Salpetersäure und dann säurefreiem absoluten Alkohol. Dieser Turnus wird ev. mehrmals wiederholt (später mit Auslassung der Jodlösung), bis (Schnitte) die Präparate ein bläuliches Schiefergrau zeigen. Untersuchung in Thymen (von Schimmel & Co. Leipzig).

(Coccothrixfärbung: dunkel- bis schwarzblaue Kügelchen in einem blafsroten Stäbchen, oder bei noch stärkerer Entfärbung dieser „Mikrosphären" allein sehr intensiv gefärbt.)

Neelsen (Cbl. f. med. Wissensch. 1883 Nr. 28 p. 600; Johne, Fortschr. d. Med. 1885 p. 201 Anmerk.).

Färbeflüssigkeit: „eine $\frac{3}{4}$ prozentige Lösung von Fuchsin in 5 prozentiger Karbolsäure, mit Zusatz von etwas Alkohol," Entfärbung in 25 prozentiger Schwefelsäure. „Die Färbung bleicht fast gar nicht aus. Bei Schnittpräparaten keine Schrumpfung."

(Weichselbaum gibt statt der 25 prozentigen Schwefels. 5 prozentige an. Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 698.)

Neelsen-Johne (Fortschr. d. Med. 1885 Nr. 7 p. 201).

„1,0 Fuchsin wird in 100 gr einer wässrigen 5 % Karbolsäurelösung gelöst und dieser Lösung 10 gr Alkohol zugesetzt. Die Färbung der Deckglaspräparate in der Wärme (Erhitzen bis zum Dampfaufsteigen) ist eine sehr rasche und intensive. Auswaschen in 25 prozentiger wässriger Schwefelsäurelösung; Nachfärben mit Methylenblau."

Negri (Journ. de. Microgr. Huitième Année 1884 Nr. 6 p. 349).

Das Präparat wird, mit einer Anilinmethylviolettlösung (s. d.) betropft. $\frac{1}{2}$—1 St. oder mehr (bei 15° C.) bedeckt stehen gelassen. Waschen in viel Wasser, jusqu' à ce que l'excès de couleur soit entièrement dissous", eintauchen in seinen salzsauren Alkohol (s. d.) „jusqu' à ce que la préparation soit éclaircie", wiederholen in frischem salzsauren Alkohol, noch feucht mit seinem Pikrokarmin betropfen und 5 Minuten färben lassen. „La préparation, ne paraît parfaitement colorée que si l'on place sur une surface blanche." Abtropfen lassen, wieder in salzsaurem Alkohol baden, bis sich nichts mehr löst, in 2 mal erneutem Aqu. dest. baden (8—10 Min.). Trocknen und in einem Tropfen auf dem Objektträger erhitzten Balsam einschmelzen.

„En examinant la préparation au Mikroscope on y voit de nombreuses spores teintes en bleu azur renfermées dans l'enveloppe transparente mais visible quand on observe avec soin, du bacille sur un fond rose."

Will man auch die Bacillen gefärbt haben, so wäscht man nach dem Karmin gleich in destilliertem Wasser aus, ohne das Präparat mit salz-

saurem Alkohol nachzubehandeln. Läfst man das Waschen in destilliertem Wasser fort, so sind Sporen und Bacillen schwierig sichtbar.

„En effet l'acide chlorhydrique et aussi l'acide picrique qui pénètrent les bacilles, les décolorent. Au contact de l'eau seule, les spores, moins perméables reprennent la coloration; il est connu que l'acide chlorhydrique et aussi comme je l'ai reconnu l'acide picrique dissimulent le violet de Méthyle qui reprend une couleur azurée sous l'action de l'eau.“

(Ob die fraglichen gefärbten Gebilde Sporen sind, ist mindestens noch zweifelhaft. Siehe Text!)

Orth (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 28 p. 421).

Färbung in Koch's Methylenblau oder in Anilinölgentiana, wie gewöhnlich. Abspülen in Wasser, Nachfärbung in Lithionkarmin oder Pikrolithionkarmin. Auswaschen in 1 %igem salzs. Alkohol, bis die violette Nuance geschwunden ist. Bacillen blau; Kerne rot.

(Vorzug: Präparate weniger angegriffen.)

Peters I (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 24 p. 365).

Färbung 30 Min. in Balmer-Fräntzel's wässriger Anilingentiana, 18 St. in 1—2 mal zu erneuerndem absol. Alkohol (in Schälchen, das mindestens 20 gr Alkohol fafst), 1 Min. in Aqu. dest., 3 M. in 2 % wässriger filtrierter Lösung von Anilingelb (Bad. Anilin- und Sodafabrik in Stuttgart), einen Augenblick in Alkohol, nachher Balsam.

(Vorteile: grofse Menge der zur Anschauung gebrachten Bacillen und Haltbarkeit der Bacillenfärbung. Nachteil: „diagnostisch (besonders bei Sputumpräparaten) nicht verwendbar, weil sich bei dieser Methode andere Spaltpilze nicht entfärben“ (Plaut, Färbungsmethoden etc. p. 16).

II (Untersuchung des Sputums auf Tuberkelbacillen. Leipzig 1886).

Färbung in frisch bereitetem Anilingentiana (nach Balmer-Fräntzel) über Flamme auf dem mit Pinzette gefafsten Deckglase, „bis etwas Dampf aufsteigt“. Dann auf dem Tische erkalten lassen, in Wasserstrahl oder im Wassergefäfs abspülen, auf die hohe Kante gestellt, auf Fliefspapier abtropfen lassen. Dann essigs. Natriumhydrosulfitmischung aufträufeln, je nach Dicke der Präparatenschicht $^1/_2$—1 Minute wirken lassen, sorgfältig mit Wasser spülen, steil angelehnt abtropfen lassen. Nachfärbung 2 Min. lang in frisch filtriertem wässrigen Vesuvin, welches man auftropft. Abspülen, steil angelehnt trocknen. Balsam.

Petri (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739. Pfuhl, D. militärärztl. Zeitschr. 1884 p. 137 [ref. D. med. Wschr. 1884 Nr. 32 p. 512]).

Antrocknen u. Fixieren 5—10 M. l. auf Ehrlich's Messingplatte, welche durch Flamme auf 100—110° gehalten wird.

Färbung schwimmend auf wässrig alkoh. Fuchsinlösung 24 St. oder in der auf Messingplatte in bedeckter Schale erhitzten (bis an der Glasplatte innen sich kondensierende Wassertropfen genügende Erhitzung der Färbeflüssigkeit anzeigen) Flüssigkeit, welche, nachdem die Deckgläschen zum Schwimmen gebracht sind, wieder zugedeckt und auf 10—15 M. zur Seite gestellt wird. Übergiefsen der Präparate in mit Ausguss versehenem Schälchen mit Eisessig, der durch rötliche Wolken mehr weniger gefärbt wird, bis das Präparat blafs ist. Ev. Eisessig erneuern auf kürzere Zeit, 3—5 mal mit Wasser nachwaschen durch Dekantieren, dann mit alkoh.

wässriger Malachitgrünlösung übergiefsen 5—10 M. Abspülen mit Wasser, Trocknen auf Fliefspapier auf der Hitzplatte. Einschlufs in heifsen geschmolzenen Balsam ebenda.

(Vorzug: Haltbarkeit der Färbung.)

II. Färbung 1—2 St. in konz. Eisessigfuchsin, Auswaschen in Wasser, Nachfärben in Malachitgrün (um zu beweisen, dafs sich die Tbb. auch in stark saurer Lösung färben können; sie sind aber blasser und nicht so schön). [Petri Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739.]

Pfeiffer Aug. (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 3 p. 33).

Präparate im Trockenschrank während $^1/_2$ St. bei reichlich 100° trocknen (um das Anbrennen der Eiweifskörper zu vermeiden). Färbung mit Anilingentiana 24 St. (Säure?). Grundfärbung alkoh. Bismarckbraun $^1/_2$—1 Minute.

Prior (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 33 p. 498).

Färbung in wässr. konz. Fuchsin oder Gentianalösung womöglich unter Erwärmen („auch in kalter Lösung kann man bereits nach einer knappen Stunde hinreichend Gruppen von echten Tuberkelbacillen erkennen"). Entfärben in Salpeters. (1 : 2?) (1—2 M.), Abspülen in Wasser ev. Grundf. — Balsam. Die Methode diente zum Beweise der Färbbarkeit der Tbb. in einf. wässrigen Anilinfarbenlösungen.

Rindfleisch (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 12 p. 183).

Färbung in Anilinfuchsin (schwimmend auf mit Pinzette gehaltenem halb gefülltem Uhrschälchen, welches über Spirituslampe bis zum Beginn des Dampfens erhitzt wird). Abspülen in Wasser oder Wasserstrahl. Entfärbung 10—15 Sek. in salpeters. Alkohol, wobei violette Wolken sich ablösen. Das Präparat ist — bis auf wenige Spuren — entfärbt; Abspülen in Wasser, Trocknen, Kanadabalsam.

Schill I. Präpariertes Deckglas schwimmen lassen auf einer Mischung von 5 Tr. einer 1% alkoh. Fuchsin-Rubinlösung mit gesättigtem filtrierten Anilinwasser im Uhrgläschen, erwärmen bis Dämpfe steigen, dann noch mindestens 1 Minute liegen lassen (Objekt jetzt rubinrot). Mit Pinzette in Salpeter (1 : 2) (in kleinem Bechergläschen) bewegen, „bis oben noch ein rötlicher Schein vorhanden ist". Abspülen in gew. Wasser, wobei das Rot wieder mehr hervortritt. 1—2 Tr. konz. alkoh. oder wässrige Methylenblaulösung aufträufeln, nach 1—2 Min. in Wasser abspülen. In Wasser untersuchen. Dauer 5 Minuten (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 2 p. 16).

II. „Tuberkelbacillenfärbung auf dem Objektträger anstatt auf dem Deckgläschen dürfte für Sputumuntersuchungen manche Vorteile bieten. Zunächst kann man wegen der gröfseren Fläche auch gröfsere Partien desselben Sputums oder auch 2—4 verschiedene Sputa auf einem Objektträger gleichzeitig färben, entfärben und nachfärben. Zur Untersuchung desselben Sputums braucht man dann nur ein Deckgläschen, welches man nach Durchmusterung des obersten Objektträgerteils nach Zufliefsenlassen eines Tröpfchen Wassers an den Deckglasrand und um Deckglasbreite weiterschiebt. Bei Untersuchung verschiedener Sputa auf

demselben Objektträger zieht man das Deckgläschen nach Untersuchung des ersten vom Objektträger herab, wischt die untere Seite mit einem angefeuchteten Stückchen Fliefspapier sorgfältig ab, legt es auf das zweite Sputum u. s. w. Will man ein Dauerpräparat nicht anfertigen, so ist nach beendeter Untersuchung das Deckgläschen rasch in etwas Alkohol wieder gereinigt. Den das Sputum tragenden Objektträger kann man auch ohne Deckglas vor Staub geschützt und etiquettiert aufbewahren: bei erwünschter nochmaliger Durchsicht fertigt man ein Dauerpräparat oder untersucht mit Hilfe eines Wassertröpfchens und Deckglases von neuem. Da das dickere Glas des Objektträgers nach dem dreimaligen Durchziehen durch die Flamme die Wärme ziemlich langsam abgibt, so kann man das Erwärmen der Ziehl-Neelsen'schen Farblösung über der Flamme ersparen, wenn man, sobald man die Kanten des Objektträgers berühren kann, ohne sich zu verbrennen, die Farblösung auftropft" (Schill, Cbl. f. Bakt. 1889 Bd. V p. 340).

(Einwände gegen die Methode i. d. Text. Verf.)

Senkewitsch (Revue für Tierheilkunde Bd. 7 Nr. 7 1884, ref. Plaut, Methoden 21).

„Deckglas mit angetrocknetem Sputum erwärmen, abspülen (?!) und in konzentrierte Fuchsinlösung bringen. Nach genügender Färbung abspülen, 1—2 Min. in Spiritus, dem auf je 10 ccm 1 Tr. Acid. nitric. zugesetzt ist, bringen, in Wasser abspülen, trocknen lassen und in Kanadabalsam konservieren."

(Nachteil: Nachfärbung fehlt, Verfärbung ungenügend.)

de Souza (Comptes rend. de la société de Biol. 1887 Nr. 25. El siglo medico. ref. D. Medztg. 1889 Nr. 61 p. 705).

Färbung in Lösung von Methylviolett in reinem Pyridin 40—60 Sek. Entfärbung und Nachfärbung wie gewöhnlich.

(Dürfte sich schon wegen des abscheulichen Geruches des Pyridin, das leicht Kopfschmerz verursacht, keine weitere Verbreitung erwerben. Die Tbb. sind dabei zudem hohl, „lackartig" gefärbt. Verf.)

Tolmann (The med. Record 1886, ref. Weichselbaum Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 721).

läfst die Patienten direkt in ein Fläschchen spucken, welches eine Mischung von 8 gr Anilinwasser, 2 gr Fuchsin und 1/2 gr 10% iger Karbolsäure enthält. Das Sputum bleibt damit 1 Tag in Berührung, wodurch es vor Fäulnis geschützt und gleichzeitig gefärbt werde.

Ausstreichen auf Deckgläsern wie gewöhnlich. Entfärbung in 5% iger Salpetersäure.

(Unzweckmäfsig.)

Unna (Die feinere Struktur der Leprabacillen. Monatsh. f. prakt. Dermatologie 1886 Nr. 9, noch ref. Cbl. f. Bakt. III 1888 p. 194).

Färbung mit einem Pararosahilin-Anilinwasser dunkelblau, einige Sekunden eintauchen in ein Gemisch von H_2O_2 und 5% iger Jodkaliumlösung und dann in Alkohol entfärben bis zum reinen Wolkenbilde, weiter in Fuchsinanilinwasser einen Moment erhitzt und durch Eintauchen in Kochsalz- oder Jodkaliumlösung, darauf in Alkohol zum zweiten Male entfärbt.

Weichselbaum (Wiener Mediz. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 365 u. Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 697 Anmerk.).

Färbung in heifsem Anilinwasser- oder Karbolwasser-Fuchsin einige Minuten, Abspülen in Wasser und unmittelbar in gesättigte alkoholische Methylenblaulösung für $^1/_2$—1 Minute gelegt, d. h. so lange, bis sie beim Herausnehmen ganz blau erscheinen.

(„Die ganze Färbungsprozedur ist in 5—6 Minuten beendet und hat aufser der gröfseren Einfachheit noch den Vorteil, dafs die bei der Salpetersäurebehandlung sich nicht selten einstellenden Farbstoffniederschläge vermieden und ein späteres Abblassen der Tuberkelbacillen hintangehalten wird.")

„Die von Friedländer (Fortsch. d. Med. II p. 329) und Baumgarten (Ztschr. f. wiss. Mikrosk.) dagegen erhobenen Bedenken sind unbegründet, da durch das konzentrierte alkoholische Methylenblau bei genügend langer Einwirkung alle übrigen Bakterien blau gefärbt werden und anderseits die Tuberkelbacillen selbst bei sehr langem Liegen in dieser Lösung die rote Farbe nicht aufgeben."

Weigert (D. M. Wschr. 1883 Nr. 24 p. 351).

Färbung in einer Lösung von Ammoniakgentiana am besten in Brutwärme 20—30 M. oder längere Zeit bei Zimmert. Weiterbehandlung nach Ehrlich.

(Soll mehr Tbb. zur Anschauung bringen als andre Methoden. (?) Nach Biedert u. Sigel. Virch. Arch. 98 p. 133 ist dies nicht der Fall. Manche Bacillen sollen dadurch ganz dunkel bis schwarz erscheinen.)

Ziehl I (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 33 p. 451).

Färbung in Ziehl's Karbolmethylviolett schwimmend 1 Stunde, waschen in reinem Wasser, entfärben mit Salpeters.

(Dauert wohl, wie Ziehl selbst bemerkt, etwas länger als bei Verwendung von Anilin [D. Med. Wschr. 1882 Nr. 33 p. 451]. NB. Die Färbung nach Guttmann [Berl. Klin. 1882 Nr. 52 p. 791.] sehr gut u. scharf.)

II (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 33 p. 451).

Färbung mit Karbolmethylgrün. Zum gef. Präparat läfst man vom Rande her Kalilauge zutreten, worauf Entfärbung eintritt; der Tuberkelb. behält die Farbe am längsten.

(Die Methode soll nur zum Beweise dienen, dafs der Tbb. nicht nur starken Säuren, sondern auch starken Alkalien bei der Entfärbung gröfseren Widerstand entgegensetzt.)

III (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 5 p. 63).

„Ein in bekannter Weise mit Fuchsin gefärbtes Präparat lege man für einige Zeit in eine Lösung von Methylenblau. Untersucht man dasselbe nach einiger Zeit, so ist das Fuchsin aus den Zellen und den meisten übrigen (allen?) im Sputum sich findenden Spaltpilzen verdrängt, nur die Tuberkelbacillen behalten die rote Farbe. Dasselbe wie mit Fuchsin und Methylenblau gelingt auch noch mit manchen anderen Anilinfarben."

(Vorteil: Vermeidung von Niederschlägen, Haltbarkeit wegen Verwendung der Säure. cf. Weichselbaum.)

Rezepte zu den Farblösungen etc.

Ich gebe hiermit eine Zusammenstellung von Rezepten nach den Originalvorschriften. Den Farbstofflösungen habe ich kurze Beschreibungen des Farbstoffes selbst vorangestellt, welche ich Schultz (Die Chemie des Steinkohlentheers) und den Tabellen von Schultz und Julius entnommen habe. Ich will noch kurz bemerken, dafs am besten sowohl Anilinfarbstoffe, als auch ganz besonders deren Lösungen durchaus vor Licht geschützt zu bewahren sind. Überhaupt thut man gut, von Zeit zu Zeit sich von der Zuverlässigkeit seiner Lösungen zu überzeugen. Die Abkürzungen bedeuten: TF = Tuberkelbacillenfärbung, EF = Entfärbungsflüssigkeit, GF = Grundfärbung (nach Gaffky).

Ammoniakgentiana (TF).

Nach Weigert:

I. Zu 2% filtr. wässr. Gentianaviolettlösung ½ % Liqu. ammon. caustic. zugesetzt (man kann bis 1% gehen). Durch Zusatz von 10% igem, soll wohl heifsen 10% Alkohol für Wochen haltbar gemacht;

oder

II. Zu 20 ccm 2% iger filtr. wässr. Gentianaviolettlösung werden vor Gebrauch ein (bis 2) ccm von im Verhältnis 1 : 10 verdünnter Liqu. ammon. caust. zugesetzt. (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 24 p. 350.)

Anilin.

„Das Anilin bildet eine farblose, ölige, eigentümlich riechende Flüssigkeit, welche ziemlich stark lichtbrechend ist (Brechungsexponent = 1,577). An der Luft und am Licht färbt es sich bald braun.“ Spez. Gew. bei 15° = 1,0265; bei 17,5° = 1,024; bei 20° = 1,0195. Siedepunkt 182°.

„Das Anilin ist in Wasser ziemlich löslich und zwar löst sich 1 Tl. Anilin nach Städeler und Arndt (Centr. 1864, 705) in 31 Tl. Wasser bei 12,5°. Alexejeff (Ber. 1887, 10, 708) fand, dafs Anilin und Wasser sich gegenseitig lösen, aber selbst bei 150° nicht in jedem Verhältnis mischbar sind. 100 Tle. Anilinwasser enthalten:

bei 16° : 3,11 Proz. Anilin
„ 56° : 3,58 „ „
„ 82° : 5,18 „ „

100 Tle. einer Lösung von Wasser in Anilin enthalten:

bei 8° : 4,58 Proz. Wasser
„ 25° : 4,98 „ „
„ 39° : 5,43 „ „
„ 68° : 6,04 „ „

„Das Anilin ist leicht in Alkohol, Äther und Kohlenwasserstoffen und den sonst gebräuchlichen Lösungsmitteln löslich. Es ist selbst ein gutes Lösungsmittel für viele sonst schwer lösliche Substanzen“, auch für Anilinfarben.

„Seine wässrige Lösung zeigt — — nur sehr schwach alkalische Reaktion; letztere ist nur durch sehr empfindliche Pflanzenfarben, z. B. den Farbstoff der Dahlia, welchen sie in Grün verwandelt, nachzuweisen; rotes Lackmuspapier wird hingegen nicht gebläut und Kurkumapapier nicht gebräunt.“

„Wird das Anilin der Luft ausgesetzt, so färbt es sich nach einiger Zeit zuerst gelb, dann rot, schliefslich braun und geht in ein Harz über, welches von Wasser mit gelber Farbe gelöst wird.“

„Nach Rosenstiel erleidet das reine Anilin keine Verharzung. Es ist jedoch nach seinen Untersuchungen äufserst schwierig, chemisch reines Anilin herzustellen“ (p. 295). Meist ist das Anilin mit Orthotoluidin verunreinigt. Dies läfst sich selbst in kleiner Menge sehr scharf erkennen, „wenn man 1 gr des zu untersuchenden Gemisches der Basen in Äther auflöst und zu dieser Lösung zuerst das gleiche Volum Wasser, dann 5 ccm Chlorkalklösung setzt. Bei Anwesenheit von Anilin färbt sich die wässrige Schicht violett. Man hebt den Äther ab, versetzt mit Wasser und etwas Säure und schüttelt. Ist O-Toluidin zugegen, so färbt sich die wässrige Schicht rot, wie eine Kaliumpermanganatlösung“ (p. 315).

Kaliumpermanganatlösung (Glaser) oder Kaliumferricyanid verwandelt das Anilin in alkalischer Lösung in Azobenzol. Ebenso wirkt nach Leeds Wasserstoffsuperoxyd“ (p. 295).

(Nach Schultz, Die Chemie des Steinkohlentheers 1886.)

Anilinfuchsin (TF).

Die Lösung wirkt am intensivsten, solange ihr noch der dem Anilinöl charakteristische Geruch anhaftet. Daher häufige Erneuerung (Veraguth, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 13 p. 190).

Nach Ehrlich:

Zu Anilinwasser wird von einer gesättigten alkoholischen Fuchsinlösung zugefügt, „bis eine deutliche Opalescenz der Flüssigkeit eintritt, die die Sättigung mit Farbstoff anzeigt.“

(Ehrlich, D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270.)

Nach Balmer-Fräntzel:

1,0 Fuchsin in 50 Anilinwasser, möglichst frisch bereitet und filtriert.

(Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 45 p. 680.)

Nach Fränkel:

5 ccm Anilinwasser in Reagenzglas aufgekocht, dazu die alkoh. Fuchsinlösung zugeträufelt (das erwärmte Anilinwasser nimmt mehr Farbstoff auf.)

(Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 194.)

Nach R. Koch:

cf. sein Anilinmethylviolett. (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 10.)

Nach Coze et Simon:

Fuchsine de Bâle (ou violet de Gentiane)	2	grammes
Alcool à 90 degrés	5	„
Eau saturée d'aniline	100	„

(Journ. de Microgr. 1884 p. 235.)

Anilingelb.

Spritgelb. Jaune d'aniline.
Salzsaures Amido-Azobenzol.

„Aussehen des Farbstoffes: stahlblaue Krystalle. In Wasser: löslich mit gelber Farbe. Durch Kochen mit Wasser unter Abscheidung der Base teilweise zersetzt. In konz. Schwefelsäure: braune Lösung. Beim Verdünnen mit Wasser: rot." (Nach Schultz und Julius.)

Nach Peters (GF):

2 % wässrige Lösung des aus der badischen Anilin- und Sodafabrik in Stuttgart bezogenen Farbstoffes.

(Peters, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 24 p. 365.)

Anilingentiana (TF).

Nach Weigert:

11 Tle. alkoh. Gentianaviolettl. : 100 Anilinwasser.

(D. Med. Wschr. 1883 Nr. 24 p. 451.)

Nach Balmer u. Fräntzel:

1,0 gr in 50,0 gr Anilinwasser möglichst frisch bereitet, vor Gebrauch filtriert! (Balmer-Fräntzel, Berl. Kl. 1882 Nr. 45 p. 680. Peters, Berl. Kl. 1883 Nr. 24 p. 365.)

Unabhängig auch von Huber gefunden.

(Weigert, D. M. Wschr. 1883 Nr. 24 p. 351.)

Nach Biedert u. Sigel (zur Gram'schen Färbung):

Zufügen von gesättigter alkohol. Lösung von Gentianaviolett zum Anilinwasser im Betrage von ca. 1/3 Volums dieses und dann weitere Zufügung von Gentianaviolett in Substanz, bis ein Satz blieb, von dem abfiltriert wurde. Vor Gebrauch filtr. (Virch. Arch. 98 p. 135.)

Anilinmagentarot (unser Fuchsin) (TF).

Nach Gibbes:

2 gr Magentarot, 3 gr Anilinöl, 20 gr 80 % Alkohol und 20 gr Aqu. dest. (The Brit. med. Journ. 1882 Oct., ref. Weichselbaum, Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 694; ref. Plaut, Färbungsmethoden etc., er gibt statt gr bei den Flüssigkeiten ccm an (!).

Anilinmethylviolett (TF).

Nach Ehrlich:

Zu Anilinwasser (gesättigte Lösung) „fügt man tropfenweise von einer gesättigten Methylviolettlösung hinzu, bis eine deutliche Opalescenz der Flüssigkeit eintritt, die die Sättigung mit Farbstoff anzeigt.

(Ehrlich, D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270.)

Nach Ehrlich (citiert von Guttmann, Berl. Kl. 1882 Nr. 52 p. 791).

Zu Anilinwasser (3 : 100 Aqu. dest.) wird von einer konz. alkoh. Methylviolettl. so viel hinzugesetzt, bis Opalescenz der Oberfläche eintritt.

Nach Ziehl (saures Anilinmethylviolett):

Zu gew. Anilinmethylviolett wird Essigs. bis zur sauren Reaktion (auf Lackmuspapier) zugesetzt, um zu beweisen, dafs die Umhüllungsschicht der Tuberkelbacillen nicht nur unter dem Einflufs von Alkalien durchgängig ist. (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 33 p. 451.)

R. Koch:

„Eine nicht zu geringe Menge (20 gr) von trockenem Methylviolett in einem gut schliefsenden Glasgefäfs mit 100—150 ccm absoluten Alkohols übergossen und mehrfach umgeschüttelt.“ „Nach tagelangem Stehen mufs am Boden des Gefässes immer noch ungelöstes Methylviolett liegen, welches natürlich durch späteres Nachfüllen von Alkohol allmälig auch in Lösung gebracht und verwertet werden kann.“

Auf 100 ccm Anilinwasser 11 ccm Methylviolettlösung, dazu 10 ccm absol. Alkohols, weil sich die Farblösung in verschlossenem Glase dann 10 T. brauchbar hält und nicht jedesmal filtriert zu werden braucht.

(Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 6.)

B. Fränkel:

5 ccm Anilinwasser im Reagenzglas erhitzt, in Schälchen gegossen; dazu die alkoh. Methylviolettl. geträufelt.

(Das warme Anilinwasser nimmt mehr Farbe auf. Färbung in 2 Min. ca. 5—10 m. Deckgläser schwimmen lassen.)

(Berl. Kl. 1884 Nr. 13 p. 194.)

Nach Negri:

Violet de Méthyle	0 gr	7
Alcool absolu	cc	10
Huile d'Aniline	cc	4

nach Lösung dazu

Aqu. destill.	cc	15

(Journ. de Microgr. Huitième Année 1884 Nr. 6 p. 349.)

Die Lösung des Anilin-Methylv. kann mehrere W. gebraucht werden, immer stets vor Gebrauch filtrieren. (Dettweiler u. Meifsen, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 7 p. 97.)

Anilinwasser.

Nach Ehrlich:

Schütteln von dest. Wasser mit übersch. Anilinöl. durch angefeuchtetes Filter filtrieren.

(Ehrlich, D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270. Balmer u. Fräntzel, Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 45 p. 680.)

Nach Guttmann:

Anilinöl 3 : 100 Aqu. dest.

(P. Guttmann, Berl. Kl. 1882 Nr. 52 p. 791.)

Nach B. Fränkel:

5 : 100 Aqu. dest. u. filtrieren.

(B. Fränkel, Berl. Kl. 1884 Nr. 13 p. 194.)

Nach Rindfleisch:

„In ein Reagenzglas wird so viel Anilinöl gegossen, dafs die Rundung des Fundus ausgefüllt ist. Darauf wird es bis zu ein Dritteil mit Wasser gefüllt, Anilinöl und Wasser tüchtig durchgeschüttelt und sofort durch ein kleines Filter, welches man in freier Hand halten kann, in ein zweites Reagenzglas filtriert.“

(Nach Rindfleisch, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 12 p. 183.)

Nach R. Koch:

„Das Anilinwasser wird in der Weise bereitet, dafs von reinem Anilin, einer ölartigen, anfangs farblosen, später braun werdenden Flüssigkeit, etwa 5 ccm in 100 ccm destillierten Wassers gegossen und diese Mischung wiederholt umgeschüttelt wird. Es lösen sich dann im Wasser 3—4 p. Ct. vom Anilin und der Rest bleibt in Form von dicken Tropfen am Boden des Gefäfses. Nachdem sich so eine gesättigte Lösung von Anilin in Wasser gebildet hat, was nach ungefähr einer halben Stunde der Fall ist, wird dieses Anilinwasser durch ein vorher angefeuchtetes Filter filtriert, um es von dem Rest des ungelösten Anilin zu trennen. Das Filtrat mufs wasserklar und farblos sein, auch dürfen in demselben keine Tröpfchen von Anilin suspendiert sein. Sollten letztere das Filter passiert haben, dann ist die Flüssigkeit noch einmal zu filtrieren. Das Anilinwasser hält sich nicht und mufs jedesmal frisch bereitet werden."

(R. Koch, M. Kl. Ges. Bd. II p. 6 1884.)

Nach B. Fränkel:

Will man das Filtrieren sparen, so löst man 3 ccm Anilinöl in 7 ccm Alkohol auf und setzt 90 ccm Wasser zu.

(B. Fränkel, Berl. Kl. 1884 Nr. 13 p. 194.)

Das Anilinwasser verändert sich mit der Zeit, ein Zusatz von 5—10% Alkohol macht es durchaus haltbar (B. Fränkel, Berl. Kl. W. 1884 Nr. 13 p. 194.)

Bismarckbraun.

„Den Hauptbestandteil des unter den Namen Bismarckbraun, Vesuvin, Manchesterbraun, Phenylenbraun, Anilinbraun, Lederbraun, Kanelle, Zimmtbraun, Englischbraun oder Goldbraun in den Handel kommenden Farbstoffs bildet das salzs. Salz einer Base, welche gewöhnlich für Triamidobenzol angesehen wird (p. 193)." „Der Farbstoff bildet ein schwarzbraunes, in Wasser und in konzentrierter Schwefelsäure mit brauner Farbe lösliches Pulver." „Auf Zusatz von Natronlauge oder Ammoniak zu der wässrigen Lösung des Farbstoffs scheidet sich die frei Base (Triamidoazobenzol) ab."

(Schultz, Chemie des Steinkohlenteers II p. 194.)

1. konz. wässrige Lösung (GF).
(Balmer-Fräntzel, Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 45 p. 680.)

2. 2 % ige wässrige Lösung (GF).
(P. Guttmann, Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 45 p. 791.)

3. alkohol. konz. (?) Lösung (GF).
(Pfeiffer, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 3 p. 33.)

(Die alkohol. Lösungen geben einen helleren Ton als die wässrigen. Peters, Unters. d. Ausw. auf Tuberkelb. 1886 p. 15.)

Boraxborsäurelösung.

I. „Dieselbe wird bereitet, indem man 12% pulverisierten Borax in heifsem destillierten Wasser löst und unter Umrühren allmälig das gleiche Quantum Borsäure zusetzt. Die Lösung wird noch warm filtriert. Bei längerem Stehen in der Flasche bildet sich ein geringer krystallinischer Beschlag, der jedoch so fest an den Gefäfswänden haftet, dafs die Lösung selbst klar bleibt." „Die angegebene Boraxborsäurelösung ist chemisch nicht als eine einfache Mischung, sondern als saures Polyborat zu betrachten.

Es ist bekannt, dafs das Natrium eine Reihe saurer Borsalze bildet, welche in den höheren Gliedern nur in Lösung zu erhalten sind und immer unbeständigeren Charakter zeigen, so dafs sie unter dem Einflusse anderer Reagentien sowohl Borsäure als Alkali immer leichter abgeben." „Unsere Lösung — zu circa gleichen Teilen — entspricht dem achtfach sauren Natriumsalz der Borsäure."

(M. Wendriner, Allg. Med. Centralztg. 1889 Nr. 8 p. 161.)

II. (nach Wendriner):

„Es werden zunächst in heifsem Wasser 8 % Borax gelöst, dann 12 % Borsäure zugesetzt und schliefslich noch 4 % Borax hinzugefügt." Nach dem Erkalten scheidet sich der überschüssige Teil der Salze krystallinisch wieder aus. Nach Abfiltrierung derselben setzt sich der Krystallisationsprozefs noch eine Zeitlang fort, ohne für die Anwendung störend zu sein, da die Krystalle an den Wandungen des Gefäfses fest haften."

(v. Sehlen, Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. IV p. 689.)

Will man die Boraxborsäurelösung zur Homogenisierung und Sedimentierung von Sputen verwenden, so mufs man dieselbe (z. B. im Verhältnis von 1 : 3) verdünnen.

(Stroschein, Mitt. a. Dr. Brehmer's Heilanstalt 1889 p. 294.)

Borfuchsin (Lübimoff) (TF):

Rf. Fuchsin	0,5	gr
Borsäure	0,5	gr
Absol. Alkohol	15,0	ccm
Aqu. dest.	20,0	ccm

„In ein reines Gefäfs wird die abgemessene Quantität destillierten Wassers gegossen und die entsprechende Gewichtsmenge Borsäure zugesetzt. Die Säurekrystalle schwimmen gewöhnlich an der Oberfläche des Wassers. Nach Beigabe des Alkohols und Umschütteln der Flüssigkeit lösen sich die Krystalle auf. Bleiben einige derselben ungelöst, so schadet dies der Sache nicht. Jetzt wird das Fuchsin hinzugefügt. Es löst sich beim Umschütteln der Flüssigkeit allmälig auf. Bleiben anfangs einige Krystalle zurück, so gehen auch diese nach einiger Zeit in Lösung über.

(Die Flüssigkeit ist schwach-sauer, dunkelrot, klar durchscheinend, verdirbt nicht und braucht nicht vor Gebrauch filtriert zu werden. [Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 542].)

Borsäureeiweifs (zur Fixierung von Sedimenten).

Nach v. Sehlen:

Das Weifse eines Hühnereies mit der gleichen Gewichtsmenge destillierten Wassers ve setzt, dazu Borax im Überschufs, kräftig schütteln und von der stark schaumigen Flüssigkeit abfiltrieren.

Oder: Mischung des Eiweifs mit gleichen Teilen kalt gesättigter Borsäurelösung (ca. 4 % ig). Die Lösung ist klar und hält sich lange ohne Zersetzung. Mitunter später leichter Bodensatz von ausgefällter Eiweifssubstanz (Serumglobulin?), dann ev. filtrieren.

Das zu untersuchende Material: Sediment etc. wird mit 1 Tropfen auf Deckglas verrieben, fixiert etc. wie gewöhnlich. Die dünne Eiweifsschicht stört nicht weiter. (Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. IV p. 686.)

Chrysoidin (nach Schultz und Julius); salzsaures Diamidoazobenzol).

„Aussehen des Farbstoffes: rotbraunes krystallinisches Pulver. In Wasser mit brauner Farbe löslich. Auf Zusatz von HCl zur wässr. Lösung: braungelbe Flocken. Auf Zusatz von NaOH zur wässr. Lösung: rotbrauner Niederschlag. — In konz. Schwefelsäure: braungelbe Lösung. — Beim Verdünnen mit Wasser: kirschrote Lösung."

Nach Gibbes (GF):

Mit Thymol versetzte wässrige Lösung.
(Gibbes, Brit. med. Journ. 1882, Okt., ref. Weichselbaum Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 694—695.)

Chrysoidine solution saturée additionée d'un cristal de thymol dissous dans un peu d'alcool pour assurer la conservation. (Gibbes.)
(Coze et Simon, Journ. de Microgr. 1884 p. 235.)

v. Ebner'sche Flüssigkeit (EF):

	Acid. muriat.	
	Natr. chlorat. ââ	2,5
	Aqu. destill.	100,0
Lösen! Dazu:		
	Alkohol	500,0

(Auf eine private Empfehlung von Wyssokowicz als Entfärbungsflüssigkeit mit Erfolg benutzt.)

Eisessig (EF).

Acid. acet. glac.
(Petri, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739. Brieger, D. Med. Wschr. 1885 Nr. 47 p. 810.)

Eisessig-Fuchsin (TF).

Konz. Lösung von Fuchsin in Eisessig.
(Petri, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739.)

Eisessig mit Natriumhydrosulfit (s. d.) (EF).

Eosin [B.] (nach Schultz und Julius). Eosin gelblich [A.], Eosin A [B.], Eosin G.G.F. [C.], Wasserlösliches Eosin [M.], Eosin B, Eosin A extra [D.H.].

Alkalisalze des Tetra-Bromfluorescein.

„Aussehen des Farbstoffes: rote blauglänzende Kryställchen oder bräunlichrotes Pulver. — In Wasser: leicht löslich mit blauroter Farbe; die verdünnte Lösung zeigt grüne Fluorescenz. — In Alkohol: leicht löslich mit blauroter Farbe und gelbgrüner Fluoreszenz. — Auf Zusatz von HCl zur wässr. Lösung: gelbrote Flocken. — Auf Zusatz von NaOH zur wässr. Lösung: keine Veränderung. In konz. Schwefelsäure: gelbe Lösung. Beim Verdünnen mit Wasser: gelbroter Niederschlag. —"

Nach Hermann (GF):

Eosine 1 gramme
Alcool à 60° 100 cent. cub.

(Hermann, Ann. de l'Inst. Past. 1889 p. 162.)

Essigsäure-Alkohol (EF):

50 % iger Alkohol mit 1 % Essigsäure.

(B. Fränkel, Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 195.)

Essigsäure-Grün.

Nach B. Fränkel (EF, GF):

„50 Alkohol, 20 Wasser, 30 Essigsäure. So viel Malachit- oder Äthylgrün, als sich löst. Zu filtrieren!" Die Lösungen sind haltbar.

(Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 195.)

Essigsäure-Nigrosin.

Nach van Ermengem (EF. u. GF.):

50 ccm Eisessig u. 20 ccm alkoh. Nigrosinlösung.

(van Ermengem, Manuel technique de Microbiologie 1887 p. 130, cit. nach Hüppe, Method. d. Bakterienf. 1889 p. 86.)

Fluorescëin.

Unter dem Namen Fluorescëin versteht man keinen bestimmten einzelnen Farbstoff, sondern eine ganze zusammengehörende Gruppe von Farbstoffen, welche zu der grofsen Gruppe der sauren Farbstoffe gehören. Man erhält daher von verschiedenen Bezugsquellen ganz verschiedene Körper als Fluorescëin. Ich lasse hier die allgemeine Charakteristik des Fluorescëins nach Schultz, Chemie des Steinkohlenteers p. 522, wörtlich folgen:

„Das mit Säuren aus seiner alkalischen Lösung gefällte Fluorescëin bildet gelbe Flocken, welche die Formel $C_{20}H_{14}O_6$ besitzen und wohl das eigentliche Resorcinphtalëin bilden. In diesem Zustande ist es in Alkohol und Äther leicht löslich. Es verliert jedoch leicht 1 Mol. Wasser und geht in das gewöhnliche Fluorescëin über. Letzteres wird in krystallisiertem Zustande von Wasser, Alkohol, Äther, Holzgeist, Aceton, Benzol, Toluol oder Chloroform kaum, oder erst beim längeren Kochen gelöst. Leicht hingegen ist es in heifsem Essig löslich. In trocknem Zustande bildet es ein gelbrotes Pulver, das beim Erhitzen über 290° sich zersetzt. Es färbt Seide und Wolle echt gelb mit einem Stich ins Rötliche; zu den Beizen hat es keine Verwandtschaft. Das Fluorescëin ist eine schwache Säure und liefert nicht gut charakterisierte Salze, von denen keines krystallisiert erhalten werden kann. Von ätzenden und kohlensauren Alkalien, Kalk- und Barytwasser gibt es mit rotgelber Farbe gelbgrüne Fluorescenz, welcher der Körper seinen Namen verdankt. Die ätherische Lösung des Fluorescëins ist hellgelb, ohne Fluorescenz, die alkoholische fluoresciert grün.

Konzentrierte Schwefelsäure löst Fluorescëin in der Kälte oder besser bei gelindem Erwärmen mit dunkelroter Farbe; auf Zusatz von Wasser scheidet sich unverändertes Fluorescein und eine Verbindung von Fluorescein und Schwefelsäure ab.

Eine Fluorescëinsulfosäure wird nach C. Gräbe, Ber. (1885) 18, 1129 durch Schmelzen von Sulfophtalsäure mit Resorcin erhalten."

Die verschiedenen Fluorescëine aus verschiedenen Bezugsquellen zeigen natürlich auch ganz verschiedene Wirkungen. Das von mir angewandte stammt von Dr. Georg Grübler, Leipzig Bayerstr. 12, und rate ich dringend,

wenn man mit der von mir angegebenen Methode sichere Resultate erhalten will, sich nur des von Grübler bezogenen Fluorescëin zu bedienen. Auf meine Anfrage schreibt mir Herr Dr. Grübler über den in Frage kommenden Farbstoff folgendes:

„Seinen chemischen Eigenschaften nach gehört das Fluorescëin zu den Phtaleïnen, ist ein Resorcinphtalëin, ein Derivat der Phtalsäure. Die Bezeichnung „Fluorescëin S“ habe ich bis jetzt nur in der Arbeit von Dr. W. Kühne*) (Nachweis der Bakterien), Wiesbaden, gefunden, leider ohne Angabe der Bezugsquelle und ohne in einer Fabrik einen Fluorescëin dieser Bezeichnung erhalten oder etwas darüber erfahren zu können; ebenso fehlen mir bis jetzt dergleichen Angaben in der Litteratur hierüber. Fabrikationell versteht man häufig unter S die Sulfosäure des Farbstoffes, z. B. bei Fuchsin-S = Säurefuchsin, eine dieser analoge Säure des Fluorescëin ist mir nicht bekannt, ebenso erhielt ich auf meine Anfrage von Anilinfarbenfabriken verneinende Auskunft.

Ich habe daher auch in meiner Liste nur den Farbstoff „Fluorescëin“ aufnehmen können, denselben, den meines Wissens, auch Sie erhalten haben; es scheint dieses auch allen gestellten Anforderungen zu genügen, da noch keiner der zahlreichen Abnehmer dieses Fluorescëin beanstandet hat.“

Seinen chem. Reaktionen nach verhält sich das von Dr. Grübler bezogene Fluorescëin folgendermafsen. Der Farbstoff ist ein rotgelbes Pulver, das sich in kaltem Wasser kaum (mit schwacher Fluorescenz), bei längerem Kochen besser mit gelbgrüner prachtvoller Fluorescenz löst. Bei Zusatz von Alkali ist der Farbstoff leichter löslich. Mit Alkohol gibt er eine gelbe Lösung mit schwach grüner Fluorescenz. Setzt man Alkohol zu dem pulverförmigen Farbstoff, so erhält man zunächst eine rotbraune trübe Flüssigkeit (welche sich schwer klärt), und erst bei Zusatz von viel Alkohol wird ziemlich plötzlich die Lösung klar, während der ungelöste Farbstoff sich als Bodensatz absetzt.

In konz. Schwefelsäure löst sich der Farbstoff zu einer rotgelben Flüssigkeit mit dunkler grüner Fluorescenz, welche, wenn auch schwach, beim Verdünnen mit Wasser bestehen bleibt.

In konz. Salzsäure löst sich der Farbstoff ohne merkliche Fluorescenz mit gelber Farbe.

Verdünnte Säuren lösen den Farbstoff mit gelber Farbe ohne Fluorescenz.

Durch Zusatz von Natriumhydrat zu einer Lösung des Farbstoffs in Wasser oder Alkohol erfolgt Zunahme der Fluorescenz (wie Uranglas), welche bei Gegenwart eines Säureüberschusses (Salzsäure) wieder schwindet.

Zinnchlorid und Salzsäure wirken bei kurzem Kochen wie Säure allein. Durch Alkali wird die Flüssigkeit wieder fluorescierend und schwach eosinrötlich.

Durch Zink und Salzsäure zunächst wie durch Säure allein — nicht angegriffen.

Durch Zinkstaub in alkalischer Lösung gelingt es bei längerem Kochen die Lösung vollkommen zu entfärben. Beim Stehen an der Luft, ja schon beim blofsen Filtrieren kehrt die Farbe teilweise wieder zurück mit Fluorescenz.

*) Herr Hofrat Dr. Kühne bezog das von ihm benutzte Fluorescëin, wie er so freundlich war mir mitzuteilen, aus der Badischen Anilinfabrik Ludwigshafen. Das in unserer Heilanstalt benutzte fand ich bereits vor. Es trug die Bezeichnung von Dr. Grübler-Leipzig.

Fluorescëin-Alkohol.

Nach Kühne (EF):

„1.0 gelbes Fluorescein ‚S' wird mit 50.0 absolutem Alkohol verrieben und das Ganze in ein Fläschchen gegossen, in welchem sich nach einiger Zeit der unaufgelöste Teil absetzt. Ist etwa die Hälfte davon verbraucht, so giefst man wieder Alkohol nach, solange noch ungelöster Farbstoff vorhanden ist. Die ausziehende Kraft des roten Fluorescëins ist geringer." (Kühne, Prakt. Anleit. mikr. zum Nachw. d. Bakt. im tier. Gewebe, Leipzig 1888 p. 43.)

Fluorescëinmethylenblau,

Nach Czaplewski (GF):

In einer konz. Lösung von gelbem Fluorescein in Alkohol, welche nicht filtriert zu werden braucht, sondern nur von dem Satze abgegossen wird, löst man Methylenblau im Überschufs. Die erhaltene dunkelblaue Flüssigkeit wird durch Abgiefsen von dem Bodensatz getrennt. Ein Tropfen davon in Waser geträufelt gibt an der Einfallstelle grünliche Fluorescenz neben blauer Färbung (Unterschied von gewöhnlichem alkoholischen Methylenblau).

Fuchsin.

Fuchsin: nicht Säurefuchsin, sondern das „alkalische" Diamantfuchsin = Fuchsin-Krystallin (Veraguth).

Einfach salzs. Rosalin. (Petri, Berl. Kl. 1883 Nr. 48 p. 739.)

„Der im Handel unter den Namen Fuchsin, Rubin oder Anilinrot vorkommende, früher auch Rosein, Magenta, Solferino, Erythrobenzin, Harmalin, Anileïn, Fuchsineïn, Rubianit und Azaleïn genannte rote Farbstoff ist das Gemenge der salzsauren oder essigsauren (seltner schwefelsauren oder salpetersauren) Salze zweier Basen, nämlich des Pararosanilins und des Rosanilins (p. 383)."

„Das Chlorhydrat kommt meistens krystallisiert (kantharidenglänzende, rhombische, treppenförmige oder kompakte Krystalle) in den Handel. Je nach der Gröfse unterscheidet man Diamantfuchsin, Fuchsin in grofsen Krystallen, Fuchsin in kleinen Krystallen etc." „Das Acetat kommt in unregelmäfsigen, grün glänzenden Stücken in den Handel. Es ist das am leichtesten lösliche und am schönsten krystallisierende Rosanilinsalz (p. 415)."

„Das Fuchsin ist schwer in Wasser, leichter in Alkohol mit roter Farbe löslich; diese Lösung wird auf Zusatz von Salzsäure gelbgefärbt." (Schultz, Chemie des Steinkohlenteers II p. 416.)

Es löst sich von Fuchsin bei 14° C. in je 10 gr Flüssigkeit

in 10 gr Aqu. dest.	0,1—0,15 gr Fuchsin
Essigs. (1% ig)	0,15—0,17
Karbols. (5% ig)	0,21
Alkohol (10% ig)	0,26—0,27
Anilinwasser	0,25—0,28

(Gottstein, D. Med. Wschr. 1886 p. 738.)

1. konz. wässrige Lösung (GF).
(Dettweiler u. Meifsen, Berl. Kl. W. 1883 Nr. 7 p. 97.)

2. wässrig alkoholisches Fuchsin (TF). (Konz. alkoh. Fuchsin 5 ccm 100 Aqu. dest.) (Petri, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739.)

Haematoxylin.

Nach Delafield (TF u. GF):

„Zu 200,0 konzentrierter wässriger Ammoniakalaunlösung werden 2,0 in 12,5 absoluten Alkohol aufgelösten Haematoxylins gesetzt. Nachdem die Lösung 3—4 Tage an Luft und Licht gestanden, wird sie filtriert und dann mit 50,0 Glycerin und 50,5 Methylalkohol vermischt. Die Lösung bleibt nun so lange stehen, bis sie eine dunkle Färbung angenommen hat, worauf sie schliefslich filtriert und in einem gut verschlossenen Glase aufbewahrt wird. Schwächere Lösungen geben bessere Färbungen."
(Kühne, Anleit. z. mikr. Nachw. d. Bakt. im tier. Gew. Leipz. 1888 p. 43.)

Karbolfuchsin (irrtümlich als Ziehl's Karbolfuchsin oder Ziehl'sche Lösung bezeichnet. Ziehl hat überhaupt das Karbol zuerst, aber für Violett empfohlen) (TF).

Nach Neelsen:

3/4 %ige Lösung von Fuchsin in 5 %iger Karbolsäure, mit Zusatz von etwas Alkohol. (Cbl. f. med. Wiss. 1883 Nr. 28 p. 500.)

Empfehlenswert „wegen Einfachheit der Ingredienzien, welche in jeder Dorfapotheke zu haben sind, und wegen der Haltbarkeit der Lösung, zweitens auch deshalb, weil bei diesem Verfahren die oft so lästige Schrumpfung der Schnittpräparate nie eintritt und die gefärbten Objekte fast gar nicht ausbleiben."

Nach Neelsen-Johne:

„1,0 Fuchsin wird in 100 gr einer wässrigen 5 %igen Karbolsäurelösung gelöst und dieser Lösung 10 gr Alkohol zugesetzt." (Die Färbung der Deckglaspräparate in der Wärme [Erhitzen bis zum Dampfaufsteigen] ist eine sehr rasche und intensive.) („In Mikrotomschnitten werden die Bacillen schon bei Zimmertemperatur in 5—10 Min. überraschend schön gefärbt.") Die Lösung kann viele Wochen ohne jedwede Veränderung ihrer vorzüglichen Färbfähigkeit aufbewahrt werden.

(„Konserviert sich gut, nur wird es etwas dunkler und überzieht sich mit einem Schmelz von Phenol.")

Nach Gaffky:

„Zur Bereitung von TF wird 1 gr trockenes Fuchsin in eine etwa 150 ccm haltende Flasche geschüttet und mit 10 ccm Spiritus übergossen. Nachdem der Farbstoff ganz oder gröfstenteils sich gelöst hat, werden 90 ccm der 5 %igen Karbollösung nachgefüllt und die Mischung einige Male umgeschüttelt.

Die so bereitete Karbolfuchsinlösung (TF) bleibt mindestens ein halbes Jahr brauchbar. Ganz frisch bereitet pflegt sie weniger gut zu färben, als nach einige Tage langem Aufbewahren."

(Anleitung zur Unters. von Sput. etc. p. 64, gesammelte Essay's a. Reichsmedizinalkalender.)

Karbolgentiana.

Nach E. Fränkel (TF):

Wie Anilingentianaviolett, aber mit 2 1/2 %igem Karbolwasser hergestellt für Gram'sche Färbung.
(E. Fränkel, Ärztl. Verein zu Hamburg, Sitz. v. 16. Juni 1885, ref. D. Med. Wschr. 1885 Nr. 33 p. 576.)

Karbolmethylenblau.

Nach Kühne (TF u. GF):

„1,5 Methylenblau werden in einer Reibschale mit 10,0 igem absoluten Alkohol übergossen, damit unter Vermeidung zu starken Aufdrückens unter allmäligem Zusatz von 100,0 5 % igem Karbolwasser verrieben und gelöst. Bei nicht zu starkem Gebrauche empfiehlt es sich, nur die Hälfte davon herzustellen, weil mit der Zeit die Färbekraft der Lösung abnehmen könnte.“ (Kühne, Praktische Anleit. z. mikrosk. Nachw. d. Bakt. im Gewebe, Leipzig 1888 p. 42.)

Karbolmethylgrün.

Nach Ziehl (TF):

Wohl ebenso hergestellt, wie Ziehl's Karbolmethylviolett.
(D. Med. Wschr. 1882 Nr. 33 p. 451.)

Karbolmethylviolett.

Nach Ziehl (TF):

„Mit Karbols. gesättigtes Wasser wird intensiv mit einer 2 % igen alkoholischen Methylviolettlösung gefärbt.
(D. Med. Wschr. 1882 Nr. 33 p. 451.)

Krystallviolett = Violett 6 B.

Krystallisiert entweder wasserfrei in kanthariden-glänzenden Nadeln oder mit 8 Mol. Krystallen in bronzeglänz. Nadeln. In Wasser und Alkohol ist es mit violetter Farbe löslich.

Reaktionen s. Methylviolett.

Nach Kühne-Herrmann (TF):

1°	Krystallviolett	1 gramme
	Alcool à 95°	30 cm cub.
2°	Carbonate ammonique	1 gramme
	Eau distillée	100 cm cub.

Man giefst in ein Uhrglas von Nr. 2 eine gewisse Menge und tropft von Nr. 1 zu, bis ein Tropfen der Mischung auf Filtrierpapier einen sehr dunklen Fleck macht.

Leicht erwärmen bis zum Blasenspringen und auf dieser Temperatur während der Färbung erhalten. (Ann. de l'Inst. Past. 1889 p. 161.)

Liqueure acide.

Nach Brun (EF):

Acide azotique	5,0
„ acétique	10,0
Eau distillée	55,0

(Coze et Simon, Journal de Micrographie 1884 p. 235.)

Lithionkarmin.

Nach Orth (GF):

2 ½ % Karmin in kaltgesättigter Lithion karbonicumlösung gelöst.
(Orth, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 28 p. 421.)

Löffler'sche Lösung (TF resp. GF).

(S. alkalisches Methylenblau.)

Malachitgrün [A] (nach Schultz und Julius).

Victoriagrün [B], Neugrün [By], Solidgrün [C], Vert Diamant [Mo], Bittermandelölgrün, Echtgrün, Benzoylgrün, Benzolgrün.

„Zinkchloriddoppelsalz, Oxalat, Pikrat*) oder Eisenchloriddoppelsalz des Tetramethyldi—p—amidotriphenylkarbinols.“

„Aussehen des Farbstoffes: als Oxalat metallisch grünglänzende Blättchen, als Zinkchloriddoppelsalz messinggelbe prismatische Krystalle. — In Wasser: löslich mit blaugrüner Farbe. — In Alkohol: löslich; löslich in Amylalkohol. — Auf Zusatz von HCl zur wässr. Lösung: rotgelbe Färbung. — Auf Zusatz von NaOH zur wässr. Lösung wird dieselbe unter Bildung eines blassgrünen Niederschlags entfärbt; letzterer ist in Äther löslich; die ätherische Lösung färbt sich auf Zusatz von Essigsäure grün. — In konz. Schwefelsäure: gelbe Lösnng. — Beim Verdünnen mit Wasser: erst dunkelgelb, dann gelbgrün und mit viel Wasser grün.“

*) Das Pikrat, welches in Wasser unlöslich ist, sich aber in Alkohol löst, wird unter der Bezeichnung Malachitgrün spritlöslich [A] in den Handel gebracht.

Malachitgrün färbt auch die nicht spezif. Organismen. Durch eine Sorte besonders wurde der Grund schön himmelblau, vor allem Contrast gegen rot. (Biedert und Sigel, Virch. Arch. 98 p. 94.)

1. konz. wässr. Malachitgrün.
(Biedert u. Sigel, Virch. Arch. 98 p. 92.)

2. konz. wässr. Malachitgrün u. Wasser âà.
(Bonner Militärmed. Abt., D. Militärärztl. Ztschr. 1885 Heft 1.)

3. konz. alkoh. Malachitgrün 5 ccm : 100 Aqu. dest.
(Petri, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 48 p. 739.)

4. ca. 1 T. konz. alkoh. Lösung auf 4—5 T. Aqu. dest.
(Gaffky, Anleit. z. Untersuch. auf Tuberkelb. p. 64, Ges. Essay's a. Reichsmedizinalkalender.)

(Das Malachitgrün färbt Tuberkelbacillen ziemlich leicht an, mufs daher zur Nachfärbung mit Vorsicht ev. in mit Essigsäure angesäuerten Lösungen verwandt werden. Ehrlich, Charité-Ann. 1886, Bd. XI p. 135.)

Methylenblau (B).

„Der Farbstoff kommt auch unter den Bezeichnungen Äthylenblau (O), Methylenblau DBB [M] in den Handel und bildet das Chlorhydrat oder Zinkchloriddoppelsalz des Tetramethylthionins (p. 762).“

„Das Methylenblau bildet ein dunkelgrünes oder rotbraunes, bronzeglänzendes Pulver. In Wasser ist es leicht mit blauer Farbe löslich; von Alkohol wird es weniger leicht gelöst. Auf Zusatz von verdünnter Salzsäure zur wässrigen Lösung tritt keine Veränderung ein. Natronlauge bewirkt in der wässrigen Lösung violettere Färbung; auf Zusatz von viel und konzentrierter Natronlauge fällt ein schmutzig-violetter Niederschlag aus. Von konz. Schwefelsäure wird der Farbstoff mit grüner Farbe gelöst; beim Verdünnen mit Wasser wird die Lösung blau. Reduktionsmittel führen den Farbstoff in die Leukobase über. Oxydationsmittel stellen die Farbe wieder her.“ (Schultz, Chemie des Steinkohlenteers p. 763—764.)

1. konz. wässrige Lösung (GF).
(Balmer-Fräntzel, Berl. Kl. W. 1882 Nr. 45 p. 680.)

2. konz. alkoh. Methylenblau ohne Säureentf. (EF u. GF).
(Ziehl, D. Med. Wschr. 1883 Nr. 5 p. 63; Weichselbaum, Wien. med. Wschr. 1883 Nr. 5 p. 63; Czaplewski, Mitt. a. Dr. Brehmer's Heilanstalt, Neue Folge 1890, p. 149.)

3. verdünnte Methylenblaulösung (GF).
(R. Koch, N. K. Ges.-Amt II p. 9—10.)
4. 10 gr Methylenblau, 10 gr Alkohol, 100 gr Wasser (GF).
(Pogačnik, Erklärung der mikrosk. Unters. etc. Wien 1887.)

Alkalisches Methylenblau.

Nach Koch (TF):

„200 ccm destillierten Wassers werden mit 1 ccm einer konzentrierten alkoholischen Methylenblaulösung vermischt, umgeschüttelt und erhalten dann unter wiederholtem Schütteln noch einen Zusatz von 0,2 ccm einer 10 % Kalilauge. Diese Mischung darf selbst nach tagelangem Stehen keinen Niederschlag geben".

(Berl. Kl. Wschr. 1382 Nr. 15 p. 221 wiederholt Mitt. a. d. Kais. Ges.-A. Bd. II p. 5.)

Nach Löffler (GF):

30 ccm konz. alkoh. Methylenblau auf 100 ccm Kalilauge 1 : 10000.
(Mitt. a. d. Kais. Ges.-A. 1884 Bd. II p. 439.)

Methylviolett (B).

„Das käufliche Methylviolett (Methylanilinviolett, Violett B, Pariser Violett) ist im wesentlichen ein Gemenge der salzsauren Salze einiger Methylderivate des p-Rosanilins, besonders des Pentamethyl p-rosanilins und des Herемethyl p-rosanilins" (p. 461).

„Das Methylviolett ist leicht in Wasser oder Alkohol mit schön violetter Farbe löslich. Durch Kochsalz wird der Farbstoff aus wässriger Lösung abgeschieden" (p. 463).

„Wässrige Lösungen des Methylvioletts werden durch successiven Zusatz von Salzsäure zuerst blau, dann grün, schliefslich braungelb gefärbt. Wird eine so erhaltene braungelbe Lösung mit Wasser verdünnt, so färbt sie sich zunächst grün, dann blau und schliefslich violett" (p. 464).

„Auf Zusatz von Ammoniak zu der Lösung des Methylvioletts fällt die Farbbase in rötlichen Flocken aus; Natronlauge scheidet die Base als braunvioletten Niederschlag ab, während die Lösung beim Kochen farblos wird. Eine alkoholische Lösung des Methylvioletts wird auf Zusatz von Alkali entfärbt." (Schultz, Chemie des Steinkohlenteers p. 464.)

Natriumhydrosulfit.

Nach Peters (EF):

Natriumhydrosulfit 0.5, gelöst in Aqu. dest., Acid. aceticum āā 25,0 Filtriert (Natriumhydrosulfit in Wasser leicht, in verdünntem Alkohol wenig, in absol. Alkohol nicht löslich). Durch Zusatz von Essigsäure, welche sich mit dem Natrium verbindet, wird die hydroschweflige Säure frei, welche letztere dem färbenden Stoffe den Sauerstoff entzieht und wahrscheinlich dadurch die Entfärbung bewirkt. Dieses Präparat ist nicht leicht darzustellen und die Darstellung desselben nur dann als gelungen zu betrachten, wenn es gut entfärbt.

(Peters, Die Unters. des Auswurfs auf Tuberkelb. Leipz. 1886.)

Pikrokarmin.

Nach Negri (GF):

1. Carmin pulverisé gr 0,5
   Ammoniaque forte cc 1,0
   Eau distillée cc 30,0

Der Karmin wird in einem Porzellanschälchen mit einigen Tropfen Wasser angerührt, mit dem Ammoniak gelöst, dann der Rest des destillierten

Wassers zugesetzt. Man läfst die Lösung offen, aber vor Staub geschützt (bei 15 ° C.) 4—5 Tage stehen, dann Dekantieren und Aufheben.

2. Alcool (käuflicher) cc 100.0
Acide chlorhydrique par gouttes 20
(équivalent environ à 1 gramme en poids).
3. konz. wässrige Pikrinsäure.
4. Nr. 2 u. Nr. 3
âà 15,0.
5. In Nr. 4 tropfenweise die Karminlösung (Nr. 1) eintragen (nicht umgekehrt [!], weil sonst Niederschlag). Bildet sich trotzdem ein Niederschlag, so wird dekantiert. Man setze einen Krystall Thymol gegen Schimmelbildung zu und bewahre in Flaschen mit Glasstopfen auf.

(Journal de Micrногr. Huitième Année 1884 Nr. 6 p. 349.)

Pikrolithionkarmin.

Nach Orth (GF):

Zu 1 Tl. 2½ % igem Lithionkarmin werden unter Schütteln langsam 2—3 Tle. kaltgesättigte wässrige Pikrinsäurelösung zugefügt.

(Orth, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 28 p. 421.)

Salpetersäure.

a) wässrige Lösungen:

1. unverdünnte offizinelle Salpetersäure.
(P. Guttmann, Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 52 p. 791.)
2. 1 : 2 Vol. Aqu. dest.
(Ehrlich, D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 270.)
3. 1 : 3 Aqu. dest.
(Balmer-Fräntzel, Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 45 p. 680.)
4. 30 % ige Salpetersäure.
(Kühne, Prakt. Anl. z. mikrosk. Nachw. d. Bakt. i. tier. Gew. Leipzig 1888 p. 29.)
5. 1 : 3—4 Tln. Aqu. dest.
(R. Koch, Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 8.)
6. 1 : 5 Vol. Wasser.
(Gaffky, Anleit. z. Unters. von Sputum etc. p. 63, Ges. Essay's a. d. Reichsmedizinalkalender.)
7. 1 : 10 Aqu. dest. (Hermann, Ann. de l'Inst. Past. 1889 p. 162.)
8. 1 : 20 (d. h. 5 % ige). (Tolman, The med. Rec. 1886.)

b) Salpetersaurer Alkohol:

1. „2 Tropfen Salpetersäure von 1,087 spez. Gew. (Acid. nitr. dil. Pharmacop. Germ.) auf ein mit Spiritus (?) halbgefülltes Uhrschälchen.“ (Rindfleisch, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 12 p. 183.)
2. 1 Tl. Salpetersäure auf 100 Tle. verdünnten (70 % haltigen) Alkohols. (P. Guttmann, Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 14 p. 221.)
3. 1 Tl. 30 % iger Salpetersäure auf 2 Tle. Alkohol.
(Biedert u. Sigel, Virch. Arch. 98 p. 92.)
4. 10 50 % rauchende Salpeters. mit Alkohol.
(Lutz, Dermat. Studien Hft. I p. 88.)

Man überzeuge sich davon, „ob kein erheblicher Gehalt von salpetriger und Untersalpetersäure vorhanden war. Die Verunreinigung entsteht oft schon in der Apotheke oder nachher beim Gebrauch, wenn man grössere Flaschen mit der Säure häufig öffnend und ausgiefsend benutzt". „Man wird aufmerksam darauf durch auffallend rasches Entfärben (der Schnitte selbst), schmutzig Gelbwerden derselben bei Fuchsinfärbung, stechenden Geruch der Säure: die Probe mit Stärkekleister und Jodkalium bestätigt dann die vermutete Verunreinigung." (Biedert u. Sigel, Virch. Arch. 98 p. 136.)

Salpetersäurefuchsin (TF):

Mischung von gleichen Teilen Alkohol, Wasser und Salpetersäure, welcher einige Tropfen einer alkoholischen Fuchsinlösung zugesetzt werden (auf 40° C. zu erwärmen).

(Rindfleisch, Sitzungsber. d. physik. med. Gesellsch. z. Würzburg 1882 Nr. 8 cit. nach Weichselbaum, Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 695.)

Salpetersäuremethylenblau.

Nach B. Fränkel) (EF u. GF):

„50 Alkohol, 30 Wasser, 20 Salpetersäure. So viel Methylenblau, als sich beim Schütteln löst, zu filtrieren."

(B. Fränkel, Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 195.)

Salpetersäurevesuvin.

Nach B. Fränkel (EF u. GF):

„70 Alkohol, 30 Salpetersäure. So viel Vesuvin, als sich löst zu filtrieren!" (B. Fränkel, Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 195.)

Salzsäure.

a) konz. Salzsäure.

(Klemperer, D. Med. Wschr. 1885 Nr. 47 p. 810.)

b) Salzsaurer Alkohol:

1. 1 Teil Salzsäure auf 100 Teile 70% Alkohol. Vol.?
   (Orth, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 28 p. 421.)
2. 1 T. reiner Salzsäure auf 100 T. 90° Alkohol.
   (Bonner Militärmediz.-Abt., D. Militärärztl. Ztschr. 1885 Heft 1.)
3. Alcool (käuflicher) cc 100,0
   Acide chlorhydrique pur gouttes 20
   équivalent environ à 1 gr en poids.
   (Negri, Journ. de Microgr. 8ème Année 1884 Nr. 6 p. 349.)
4. 100 ccm 90° Alkohol, 20 ccm Wasser u. 20 Tropfen konz. Salzsäure.
   (Kaatzer, D. Technik d. Sputumuntersuch. auf Tuberkelb. p. 9.)
5. 3%iger Salzsäurealkohol.
   (Günther, „Einführung in das Studium der Bakteriol. p. 166.)

(Cf. v. Ebner'sche Entkalkungsflüssigkeit (s. d.).

Sulfanilsalpetersäure.

Nach Ehrlich (EF):

1 Teil Salpetersäure : 2 Teilen konz. wässriger Sulfanilsäurelösung. „Es hat dieser Zusatz den Zweck, etwa entstehende salpetrige Säure, die als gasförmiger Körper ähnlich wie Jod, Chlor leicht in die Bacillen dringt und den Farbstoff vernichtet, zu binden."

(Ehrlich, Charité-Ann. 1886 Bd. XI p. 136.)

Schwefelsäure (EF).

Verd. wässrige 25 % ig.

(Neelsen, Cbl. f. med. Wiss. 1883 Nr. 28 p. 500. Johne, Fortschr. d. Med. 1885 Nr. 7 p. 202.)

5 % ige wässrige Lösung.

(Weichselbaum, Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 698.)

Schwefelsäuremethylenblau.

Nach Gabett (EF und GF):

75 Wasser, 25 konz. Schwefelsäure und 1,0—1,5—2,0 Methylenblau.

(Gabett, The Lancet Nr. 3319.)

Terpentingentiana.

Nach Prior (TF):

Wird mit Hilfe von Terpentinwasser ganz wie die Ehrlich'sche Lösung hergestellt. (Prior, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 33 p. 498.)

(Präparate deutlich, aber Anzahl der Bacillen geringer als bei Anilingentiana. Prior.)

Thymolfuchsin.

Nach Brieger (TF):

Gleiche Teile wässrig oder alkoh. Fuchsinl. und Thymolwasser (1 : 1000).

(D. Med. Wschr. 1885 Nr. 47 p. 810.)

(Hält sich lange unzersetzt, braucht nicht jedesmal filtriert zu werden, fixiert den Farbstoff schneller und intensiver als das Anilinwasser.)

O-Toluidin (nach Schultz, Die Chemie des Steinkohlenteers).

Das Orthotoluidin bildet rein eine farblose Flüssigkeit.

Spec. Gew. bei 15° 1,0037, bei 21,8° 0,9978, bei 25,5° 0,998.

Es bräunt sich an der Luft. Löst sich in Wasser ungefähr in demselben Verhältnis wie Anilin.

Toluidinfuchsin.

Nach B. Fränkel (TF):

Mit verdünntem Toluidinwasser und alkoh. Fuchsin hergestellt, genau wie Fränkel's Anilinfuchsin. (Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 184.)

Toluidinmethylviolett.

Nach B. Fränkel (TF):

Mit erwärmtem Toluidinwasser und alkoh. Methylviolett hergestellt, genau wie Fränkel's Methylviolett.

(Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 194.)

Toluidinwasser.

„Das dem Anilin homologe (Ortho-)Toluidin, welches in jedem käuflichen Anilin als Verunreinigung enthalten ist, selbst aber vollkommen rein im Handel vorkommt,“ schien B. Fränkel „mindestens dasselbe zu leisten wie Anilin“. Wasser löst davon nur ca. $\frac{1}{2}$ soviel wie von Anilin, ca. 1,5 %. Dies sei für die Bacillenfärbung gerade die richtige Mischung. Nehme man mit Hilfe von Alkoholzusatz bereitete konzentrierte Lösungen, so verschlechtere das eher die Färbung. Rp. Toluidin 1,5, Alkohol 8,5, Aqu. destill. 90,0, sonst kann man sich das Toluidinwasser genau wie Anilinwasser herstellen.

(B. Fränkel, Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 194.)

Vesuvin (s. Bismarckbraun).

Konz. wässrige Lösung (EF und GF).
Vor dem Gebrauch filtrieren.

(R. Koch, Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 15 p. 221.)

„Wässrige frisch filtrierte Lösung, welche in einer Schicht von 2 cm Tiefe noch eben durchsichtig ist (GF).

(R. Koch, Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt II p. 9.)

Vesuvin S	1 gr	(GF)
Alcohol abs.	10 gr	
Aqu. destill.	40 gr	

Filtrieren!

(Peters, Die Unters. d. Ausw. auf Tuberkelb. Leipzig 1886 p. 15.)

(Die Lösung ist ev. durch Einlegen von einem Stückchen Kampher vor dem Verschimmeln zu schützen!)

(Kaatzer: Die Technik d. Sputumunters. auf Tuberkelb. 1884 p. 15.)

Litteraturverzeichnis.

Die nur im Referat eingesehenen Schriften sind mit *, die, von denen mir nur die Litteraturangabe bekannt ist, mit ** bezeichnet.

Amann, J.,* „Die feinere Struktur des Tuberkelpilzes“ (Schweizer. Wschr. f. Pharmacie 1887 Nr. 15 ref. Cbl. f. Bakt. 1887 Bd. II p. 131).

— „Die mikroskopische Sputumuntersuchung“. Davos 1891.

— „Der Einflufs der Koch'schen Impfungen auf die Tuberkelbacillen im Sputum“ (Cbl. f. Bakt. 1891 Nr. 1 p. 1).

Amrusch,* „Über eine Zoogloea-Form der Tuberkel-Organismen“ (Wiener med. Jahrbücher 1886 Hft. 6 p. 291).

Aufrecht, „Die Ätiologie der Tuberkulose“ (Cbl. f. d. med. Wissensch. 1882 Nr. 17 p. 289).

Babés, V.,* „Étude comparative des bactéries de la lèpre et de la tuberculose“ (Compt. rend. T. 96 1883 p. 1246).

— „Sur les associations bactériennes de la Tuberculose“ (Congrès pour l'étude de la Tuberculose 1re Session du 25 au 31 Juillet 1888 à Paris. Paris, G. Masson 1889.

— „Recherches sur les associations bactériennes du bacille de la tuberculose“ (S.-A. a. Le progrès médic. Roumain 1888 Nr. 36. Bucarest. 8⁰. 24 p.).

Cornil und **Babés,*** „Les bacteries“ 2e édit. 1886.

Ballagi (Wiener med. Presse 1883 Nr. 17).

Balmer und **Fräntzel,** „Über das Verhalten der Tuberkelbacillen im Auswurf während des Verlaufs der Lungenschwindsucht“ (Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 45 p. 679).

Balogh,* „Die Tuberkelbacillen in Budapest“. Diskussion in der Gesellschaft der Ärzte zu Budapest (Wiener med. Blätter [Originalkorrespondenz] 1882 Nr. 49. Wiener med. Presse 1882 p. 1618 ref. Cbl. f. Kl. Mediz. 1883 Nr. 12 p. 198).

Baumgarten, P., „Tuberkelbacillen“ (Cbl. f. d. med. Wissensch. 1882 Nr. 15 p. 257).

— „Notiz über die Tuberkelbakterien“ (Cbl. f. med. Wissensch. 1882 Nr. 19 p. 337).

— „Nachweis von Tuberkelbacillen in Sputis“ (Cbl. f. d. med. Wissensch. 1882 Nr. 25 p. 434).

— „Bemerkung“ (zu Weigert's Aufsatz in Nr. 24). (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 26 p. 385.)

— Antwort auf die „Erwiderung“ des Herrn Prof. C. Weigert (in Nr. 29 dieser Wschr.) (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 31 p. 459).

—* „Über die Unterscheidungsmerkmale des Bacillus der Tuberkulose und der Lepra“ (Monatshefte f. prakt. Dermatologie Bd. III 1884 p. 193).

Baumgarten, P., „Über Untersuchungsmethoden zur Unterscheidung von Lepra- und Tuberkelbacillen" (Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. I 1884 p. 367).

— Über die Färbungsunterschiede zwischen Lepra- und Tuberkelbacillen (Cbl. f. Bakt. 1887 Bd. I p. 24).

— „Tuberkel- und Leprabacillen" (Cbl. f. Bakt. 1887 Bd. II p. 291).

— „Lehrbuch der Pathol. Mykologie". 1890. Harald und Bruhn.

— „Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen" (1885, 1886, 1887, 1888, 1889).

Bernheim, H., „Taschenbüchlein für den bakteriologischen Praktikanten" (Würzburg 1889).

v. Besser, „Über die Bakterien der normalen Luftwege" (Ziegler's Beitr. z. path. Anat. Bd. VI Heft 4).

Biedert, „Ein Verfahren, den Nachweis vereinzelter Tuberkelbacillen zu sichern, nebst Bemerkungen über die Färbbarkeit der Bacillen und Ätiologie der Tuberkulose" (Berl. Kl. Wschr. 1886 Nr. 42 p. 713 und Nr. 43).

— — (Berl. Kl. Wschr. 1887 Nr. 2 p. 30).

— „Zur Diagnose und Behandlung der Tuberkulose" (Berl. Kl. Wschr. 1891 Nr. 2 p. 32).

— „Behandlung der Tuberkulose nach Koch" (Forts. a. Nr. 24) (D. Mdztg. 1891 Nr. 28 p. 328).

Biedert und **Sigel**, „Chron. Lungenentzündung, Phthise und Miliartuberkulose" (Virch. Arch. 98 p. 91).

Bienstock, „Zur Frage der sogenannten Syphilisbacillen und der Tuberkelbacillenfärbung" (Fortschr. d. Med. 1886 Bd. IV Nr. 6 p. 193).

Biermer, „Die Lehre vom Auswurf" (Würzburg 1855).

Bitter, H., „Über Syphilis- und Smegmabacillen nebst Bemerkungen über die färberischen Eigentümlichkeiten der Smegma- und Tuberkelbacillen" (Virch. Arch. Bd. 106 1886 Heft 2 p. 209).

Bliesener,* „Zum Nachweis des Tuberkelbacillus" (Deutsche militärärztl. Ztschr. Jahrg. XVIII Heft 9 p. 406—409, nach Refer. Cbl. f. Bakt. 1890 VII p. 72).

Bonner Militärmedizinal-Abteilung,* „Zur Färbung der Tuberkelbacillen" (Deutsche Militärärztl. Ztschr. 1885 Heft 1, nach Refer. Cbl. f. med. Wiss. 1885 Nr. 15 p. 264).

Brehmer, „Die Therapie der chron. Lungenschwindsucht" (J. F. Bergmann-Wiesbaden 1887).

Brunn,** (Revue de la Suisse Romande 1882 No. VIII).

v. Bruns, „Über die prognostische Bedeutung des Tuberkelbacillus" (D. Medic. Wschr. 1891 Nr. 4 p. 154).

Bütschli, „Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen" (Leipzig 1890).

Celli, A. & **G. Guarnieri**,* „Sopra talune forme cristalline che potrebbero similare il bacillo del tuberculo" R. Acad. dei Lincei 3 Mem. della classe di scienze fisiche etc. (XV 1883 17. Juni, refer. Cbl. f. med. Wiss. 1883 Nr. 48 p. 878—879).

— „Sulla presenza del bacillo del tuberculo ne varii prodotti tubercolari" (Gaz. d. ospitali 1883 No. 37 und 40, refer. Cbl. f. kl. Medic. 1883 Nr. 34 p. 550).

Cheyne, Watson,* „Report on the relation of microorganism to tuberculosis. Referat der Medicaltimes and gazette 1883 März 17, refer. Fortschr. d. Medic. 1883 und Cbl. f. kl. Medic. 1883 Nr. 22 p. 362).

Chiari,* „Über die Bacillen der Tuberkulose" (Prager med. Wschr. 1883 Nr. 1, refer. Cbl. f. kl. Medic. 1883 Nr. 22 p. 362).

Cochez,* „De la recherche des bacill. d. l. tuberculose dans les produits d'expectoration" (Thèse Paris 1883. L'union médic. 168).

Coze et Simon,* (Bullet. génér. de thérapeut. 1884).

— „Recherches de Pathologie et de Thérapeutique expérimentales sur la Tuberculose" (Journ. de Micrographie 1884 p. 235).

Crämer, Fr.,* „Über das Vorkommen der Tuberkelbacillen bei Phthisikern" (Erlang. phys. med. Gesellsch. Sitzungsber. v. 11. Dez. 1882, refer. Cbl. f. kl. Medic. 1883 Nr. 18 p. 299).

Czaplewski, E., „Zur Sputumuntersuchung" (Mitt. a. Dr. Brehmer's Heilanstalt N. F. 1890 p. 141—162).

— „Zum Nachweis der Tuberkelbacillen im Sputum" (Cbl. f. Bakteriol. Bd. VIII 1890 Nr. 22 p. 685—694, Nr. 23 p. 717—726).

Demme, (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 15).

Dettweiler und Meissen, „Der Tuberkelbacillus und die chronische Lungenschwindsucht" (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 7 p. 97 u. 117).

Dineur, E.,* „Nouvelle méthode simplifiée et rapide pour la recherche du bacille de Koch. dans les expectorations tuberculeuses" (Bulletin de la société belge de microscop. T. XV, ref. Cbl. f. Bakt. 1890 Bd. VII p. 382).

Dor, L.,* „Méthode de coloration rapide des bacilles de la tuberculose et de la lèpre" (Lyon médic. 1888 Nr. 18 Avril 29, cit. nach Baumgarten. Jahresbericht 1887 p. 167).

Dreschfeld, J.,* „On the diagnostic value of the Tubercle Bacillus" (Brit. med. Journ. 1883 Febr. 17).

Eberth, C. J., „Die Untersuchung des Auswurfs auf Tuberkelbacillen" (Berl., Fischer's med. Buchhandlung 1891).

Eberth (s. Friedländer-Eberth).

Ehrlich, P.,* „Verhandlungen der physiol. Gesellsch. zu Berlin 1878/79 Nr. 20.

— „Methodologische Beiträge zur Physiologie und Pathologie der verschiedenen Formen der Leukocyten" (Ztschr. f. kl. Medic. 1880 Bd. I p. 553).

— Referat über den von E. im Verein f. innere Medic. zu Berlin (Sitzung v. 1. Mai 1882) gehaltenen Vortrag (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 19 p. 269, Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 1 p. 13).

— Referat und Diskussion über die gegen R. Koch's Entdeckung der Tuberkelbacillen neuerlichst hervorgetretenen Resultate. Verhandl. d. Vereins f. innere Medic. Berlin (Sitzung v. 5. März 1883) (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 11 p. 159).

— „Beiträge zur Theorie der Bacillenfärbung" (Charité-Ann. Jahrg. XI 1886 p. 123—138).

Eichler (s. Finkler und Eichler).

Elliott, J. L.,* The bacillus tuberculosis and the busy practitioner" (Philadelphia medic. Times 1887 p. 662, refer. Cbl. f. Bakt. 1887 Bd. II p. 757).

van Ermengem,* „Le microbe de la tuberculose" (Ann. de la société belge de Microscopie 1882).

—* „Manuel technique de Mikrobiologie" (französ. Bearbeitung von Hüppe's Methoden d. Bakterienf.) 1887.

Ernst, P.,* „Gabett's Färbung der Tuberkelbacillen" (Correspondenzbl. f. Schweiz. Ärzte XVII 1887 Nr. 22, refer. Cbl. f. Bakt. 1888 III p. 99).

Ernst, P.,* „Über den Bacillus xerosis und seine Sporenbildung“ (Ztschr. f. Hyg. IV p. 25).
— „Über Kern- und Sporenbildung bei Bakterien“ (Ztschr. f. Hyg. V p. 428).
Eschle, „Tuberkelb. im Ausflufs von Mittelohreiterungen von Phthisikern“ (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 30 p. 441).
d'Espine,** (Revue médic. de la Suisse Romande 1882 Nr. 12).
Evans, Charles Seth, „Über in Lungenkavernen vorkommende Mikroorganismen“ (Virch. Arch. Bd. CXV 1889 Heft 1).
Finkler und **Eichler,** „Über Erkennung der Tuberkelbacillen“ (Cbl. f. kl. Medic. 1883 Nr. 15 p. 243) (7. April).
Flügge, „Die Mikroorganismen“ (1885).
Fränkel, B., Berl. Medic. Gesellsch. (Sitzung v. 1. Nov. 1882) (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 4 p. 58).
— „Über die Färbung des Koch'schen Bacillus und seine semiotische Bedeutung für die Krankheiten der Respirationsorgane“ (Vortr. geh. in d. Berl. Medic. Gesellsch. 5. März 1884, refer. D. Med. Wschr. 1884 Nr. 11 p. 172) (Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 193, Nr. 14 p. 214).
— „Die Gabett'sche Färbung der Tuberkelbacillen eine „unwesentliche“ Modifikation meiner Methode“ (D. Med. Wschr. 1891 Nr. 15 p. 552).
Fränkel, C., „Grundrifs der Bakterienkunde“ (3. Aufl. 1890).
Fränkel, C. und **Pfeiffer,** „Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde“ (1890—91).
Fräntzel, Oskar (s. Balmer und Fräntzel).
— „Weitere Bemerkungen über das Verhalten der Tuberkelbacillen im Auswurf während des Verhaltens der Lungenschwindsucht“ (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 17 p. 245).
— „Wie weit können wir den Nachweis von Tuberkelbacillen bis jetzt praktisch verwerthen?“ (Dtsch. Militärärztliche Ztschr. Aug. 1883, ref. Fortschr. d. Medic. 1884 Nr. 6 p. 72).
Fräntzel, O. und **Runkwitz,** „Systematische Anwendung des Koch'schen Spezifikums gegen Tuberkulose bei inneren Krankheiten“ (D. Medic. Wschr. 1890 Nr. 47 p. 1053).
Friedländer, C., „Notiz über die Färbung der Tuberkelbacillen“ (Fortschr. d. Medic. 1883 Nr. 5 p. 148).
— „Über die färberische Reaktion der Tuberkelbacillen“ (Fortschr. d. Medic. 1886 Bd. IV Nr. 6 p. 196).
Friedländer-Eberth, „Mikroskopische Technik“ (IV. Aufl. Berl. 1889).
Frisch, H.,* (Wien. med. Presse 1883 Nr. 46 und 47).
Gabett,** (Brit. med. Journ. 1884).
—* (The Lancet Nr. 3319, ref. Weichselbaum Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 695).
„Rapid staining of the Tubercle Bacillus“, Briefkasten von „The Lancet“ vom 9. April 1887 p. 757, vollst. im Wortlaut citiert von B. Fränkel (D. Med. Wschr. 1891 Nr. 15 p. 552).
Gaffky, „Ein Beitrag zum Verhalten der Tuberkelbacillen im Sputum“ (Mitt. a. d. Kais. Ges.-A. II p. 126).
— „Anleitung zur Untersuchung von Sputum auf Tuberkelbacillen“ (Gesammelte Essays a. d. Reichsmedizinalkalender p. 64).
Gessler, H., „Die Bedeutung der Koch'schen Bacillen für die klinische Diagnose“ (D. Medic. Wschr. 1883 Nr. 34 p. 497).
de Giacomi, „Die diagnostische Bedeutung des Nachweises der Tuberkel-

bacillen im Stuhl" (Fortschr. d. Med. 1883 Nr. 5, ref. Cbl. f. kl. Medic. 1883 Nr. 18 p. 299).
Gibbes,* „Rapid method of demonstrating the tubercle bacillus without the use of nitric acid" (Lancet 1883 p. 771, ref. z. B. Berl. Kl. 1884 Nr. 13 p. 195. Journ. de Micrregister. 1884 Nr. 1 p. 24).
Gottstein, A., „Über Entfärbung gefärbter Zellkerne und Mikroorganismen durch Salzlösungen" (Fortschr. d. Medic. 1885 Bd. III Nr. 19 p. 627).
— „Die Beeinflussung des Färbungsverhaltens von Mikroorganismen durch Fette" (Fortschr. d. Medic. 1886 Bd. IV Nr. 8 p. 252).
— „Bemerkungen über das Färbungsverhalten der Tuberkelbacillen" (D. Med. Wschr. 1886 Nr. 42 p. 737).
— „Die Verwerthung der Bakteriologie in der klinischen Diagnostik" (Berlin 1887, Fischer's Medic. Buchhandlung).
Gram, Chr., „Über die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten" (Fortschr. d. Med. 1884 Nr. 6 p. 185).
Grigorjew,* „Zur Frage über die Färbbarkeit der Mikroorganismen nach der Ehrlich'schen Methode" (Russisch), ref. von v. Heydenreich, Ztschr. f. wissensch. Mikr. Bd. IV p. 251.
Guarnieri (s. Celli und Guarnieri).
Günther, C., „Über die mikroskop. Färbung der wichtigsten pathogenen Bakterien mit Anilinfarbstoffen" (D. Med. Wschr. 1887 Nr. 22).
— „Einführung in das Studium der Bakteriologie" (Leipzig 1890).
Guttmann, P., Über den Nachweis der Tuberkelbacillen und ihr Vorkommen in den phthisischen Sputis" (Sitzung d. Berl. med. Gesellsch. v. 19. Juli 1882) (Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 52 p. 791).
— Berl. med. Gesellsch. Sitz. v. 19. März 1884 (Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 14 p. 221, Nr. 15 p. 239).
Hammerschlag,* „Bakteriochem. Untersuchungen über Tuberkelbacillen" (Cbl. f. klin. Medic. 1891 Nr. 1, ref. Cbl. f. Bakt. 1891 Nr. 8 p. 272).
Harold,** (Boston. medic. and surg. Journ. 1883 Aug.).
Heitler,** (Wiener med. Wschr. 1883 Nr. 43 und 44).
Hermann, M., „Procédé rapide de coloration du bacille tuberculeux dans les liquides et les tissus organiques" (Ann. de l'Instit. Pasteur 1889 p. 160).
v. Heydenreich, L.,* „Die Struktur des Tuberkelbacillus" Wratsch 1887 Nr. 33 (Russisch), refer. Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. V 1888 p. 397 und Baumgarten's Jahresber. 1888 p. 167.
Hiller, „Über initiale Haemoptoë und ihre Beziehungen zur Tuberkulose" (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 47).
Hirschfelder,** (New York. Medic. Record, janv. 1883).
Hüppe, „Die Methoden der Bakterienforschung" (IV. Aufl. Wiesbaden 1889).
Hunt,** (New York. Medic. Record, mars 1883).
v. Jaksch, R., „Klinische Diagnostik". Wien u. Leipzig, Urban & Schwarzenberg.
Johne, Cbl. f.
— „Über die Koch'schen Reinkulturen und die Cholerakurse" (Leipzig 1885).
Julius, P., (s. Schultz und Julius).
Kaatzer, P., „Die Technik der Sputum-Untersuchung auf Tuberkelbacillen" (Wiesbaden, J. F. Bergmann 1884).
— „Das Sputum" (Wiesbaden 1887).
v. Kahlden, „Technik der Histologischen Untersuchung Pathologisch-anatomischer Präparate" (Gust. Fischer. Jena 1890).
Karpoff,* „Diagnose der frühen Stadien der Lungentuberkulose. III. Congr. russ. Ärzte zu St. Petersburg, ref. Cbl. f. Bakt. 1889 Bd. V p. 714).

Klemperer, „Über Syphilis- und Smegmabacillen" (D. Med. Wschr. 1885 Nr. 47 p. 809).
Klebs, „Allgemeine Pathologie". Jena, Gust. Fischer 1887.
Koch, R., „Verfahren zur Untersuchung, zum Konservieren und Photographieren der Bakterien" (Cohn's Beitr. z. Biolog. d. Pflanz. Bd. II Heft 3 1877).
— „Untersuchungen über die Ätiologie der Infektionskrankheiten". 1878.
— „Zur Untersuchung von pathogenen Organismen" (Mitteil. a. d. Kais. Ges.-A. I p. 1 1881).
— „Die Ätiologie der Tuberkulose". (Nach einem in der physiol. Gesellsch. z. Berlin am 24. März 1882 gehaltenen Vortrag.) (Berl. Kl. Wschr. 1882 Nr. 15 p. 221).
— „Kritische Besprechung der gegen die Bedeutung der Tuberkelbacillen gerichteten Publikationen" (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 10 p. 137).
— „Die Ätiologie der Tuberkulose" (Mitteil. a. d. Kais. Ges.-A. Bd. II p. 1 1884).
— „Weitere Mitteilungen über ein Heilmittel gegen Tuberkulose" (D. Med. Wschr. 1890 Nr. 46a p. 1029).
Kredel,* „Klinische Erfahrungen über Tuberkelbacillen". (A. d. med. Klinik v. Prof. Riegel-Giefsen ref. v. Gaffky in D. Med. Wschr. 1883 Nr. 29 p. 435.)
Kühne, H.,** (Monatsh. f. prakt. Dermatol. 1887, Ergänzungsheft).
— „Praktische Anleitung z. mikr. Nachweis der Bakterien im tierischen Gewebe". Leipzig 1888.
— „Die Untersuchung von Sputum auf Tuberkelbacillen" (Cbl. f. Bakt. Bd. VIII 1890 Nr. 10 p. 293).
Lachmann, B., „Kleine Beiträge zur Kenntnis der Tuberkelbacillen" (D. Med. Wschr. 1884 Nr. 13 p. 196).
Lemcke,* Sitzungsbericht des Rostocker Ärztevereins vom 15. Sept. 1883.
Leyden, „Klinisches über den Tuberkelbacillus" (Ztschr. f. kl. Medic. VIII p. 375).
Lichtheim, „Zur diagnostischen Verwertung der Tuberkelbacillen" (Fortschr. d. Medic. Bd. I 1883 Nr. 1 p. 4).
Loomis, H. P.,* „Simple and rapid staining of the tubercle bacills for the general praktitioner (Medic. Record Vol. XXXIII 1888 Nr. 28 p. 631, ref. Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. IV p. 282).
Lübimoff, N., „Zur Technik der Färbung von Tuberkel- und Leprabacillen" (Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 540).
Lustgarten, „Die Syphilisbacillen" (S.-Abdr. a. d. med. Jahrb. d. K. K. Gesellsch. d. Ärzte 1885).
Lutz, „Zur Morphologie des Mikroorganismus der Lepra" (Dermatol. Studien Hft. 1 1886 p. 77).
— „Zur Histologie und Therapie der Lepra" (Verhandl. d. 5. Kongr. f. inn. Medic. zu Wiesbaden 1886 p. 227).
Mackenzie,** (Edinburgh. med. Journ. 1884 Febr.).
Marchand, „Die neuen Anschauungen über die Natur der Tuberkulose" (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 15 p. 214).
May,* „Über das Verhältnis der Bacillen im Auswurf der Phthisiker und ihre Bedeutung für die Prognose" (Münch. med. Wschr. 1886 Nr. 25).
Meifsen (s. Dettweiler und Meifsen).
Menche,* „Über den Tuberkelbacillus und seinen Nachweis im Gewebe beim lebenden Menschen" (a. d. med. Klin. zu Bonn). (Vortrag gehalten in einer Sitzung der medic. Sektion des niederrhein. Vereins

für Natur- und Heilkunde am 22. Jan. 1883, ref. Fortschr. d. Medic. 1883 Bd. I Nr. 5 p. 171).

Merkel, „Tuberkelbacillen bei diabetischer Lungenphthise“ (Cbl. f. kl. Med. 1883 Nr. 12 p. 193).

Metschnikoff, „Über die phagocytäre Rolle der Tuberkelriesenzellen“ (Virch. Arch. 1888 Bd. 113 p. 63).

— „Réponse à la critique de M. Weigert au sujet des cellules géantes de la tuberculose“ (Ann. de l'Inst. Pasteur 1888 Nr. 11 p. 604).

Mühlhäuser, H., „Über das Biedert'sche Verfahren zum Nachweis von Tuberkelbacillen“ (D. Med. Wschr. 1891 Nr. 7 p. 282).

Müller, Fr., „Über die diagnostische Bedeutung der Tuberkelbacillen“. (Sep.-Abdr. a. d. Verhandl. d. phys.-med. Gesellsch. zu Würzburg N. F. XVIII. Bd. 1883).

Münster, Arn.,* (Ztschr. f. Mikrosk. Jahrg. 1878).

Mya,** (Gaz. d. ospit. 1883 Nr. 56).

Neelsen, „Ein casuistischer Beitrag zur Lehre von der Tuberkulose“ (Cbl. f. med. Wiss. 1883 Nr. 28 p. 497).

Negri, „Coloration des spores dans les bacilles de la Tuberculose“ (Journ. de Micrograph. Huitième Année Nr. 6 p. 349).

Negri & **Pinolini**,** (Lo sperimentale 1882).

Neisser, „Über die Struktur der Lepra- und Tuberkelbacillen mit spezieller Berücksichtigung der Rosanilin- und Pararosanilinfarbstoffe“ (I. Kongr. d. deutsch. dermatol. Gesellsch. in Prag, ref. Cbl. f. Bakt. 1889 Bd. VI p. 202).

Obrzut, A., „Prof. Spina's neue Methode zur Färbung der Fäulnismikroorganismen und ihre Beziehung zu den Tuberkelbacillen“ (D. Med. Wschr. 1885 Nr. 12 p. 183).

Orth, „Notizen zur Färbetechnik“ (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 28 p. 421).

Peters, „Nachweis der Tuberkelbacillen in Schnitten durch die Doppelfärbung: Gentianaviolett-Anilingelb ohne Salpetersäureentfärbung“ (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 24 p. 365).

— „Die Untersuchung des Auswurfs auf Tuberkelbacillen“. Leipzig 1886.

Petri, „Zur Färbung des Koch'schen Bacillus in Sputis, sowie über das gleiche Verhalten einiger Pilzzellen“.

Petrone, A.,* „Il bacillo di Koch nell' essudato della leptomeningite tubercolare“ (Gaz. degl. Ospit. 1885 Nr. 889).

Pfeiffer, Aug., „Über die Regelmäfsigkeit des Vorkommens der Tuberkelbacillen im Auswurf Schwindsüchtiger“ (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 3 p. 32—33, ref. Cbl. f. kl. Medic. 1883 Nr. 12 p. 198).

Pfeiffer, R., (s. Fränkel und Pfeiffer).

Pfuhl,* „Über das einfachste Verfahren zur Auffindung der Tuberkelbacillen im Auswurf“ (a. d. Garnison-Lazareth zu Altona). (D. Militärärztl. Ztschr. 1884 p. 137, ref. D. Med. Wschr. 1884 Nr. 32 p. 512.)

Philipp, W.,* „On an improved method for the detection of the tubercle bacillus in sputum“ (Edinb. med. Journ. 1886 p. 109 Nov., ref. Cbl. f. med. Wiss. 1886 Nr. 51 p. 942).

Pinolini (s. Negri & Pinolini).

Plaut, H., „Färbungsmethoden zum Nachweis der fäulniserregenden und pathogenen Mikroorganismen“. II. Aufl. Leipzig 1885.

Pogačnik, A., „Erklärung der mikrosk. Untersuchungen auf Tuberkelbacillen im Sputum Brustkranker“ (Beilagshefte z. VI. Internat. Congr. f. Hyg. u. Demograph. Wien 1887).

Predöhl, „Die Geschichte der Tuberkulose“. Hamburg und Leipzig 1888.

Prior, „Beitrag zur Färbbarkeit des Tuberkelbacillus“ (Berl. Kl. Wschr. 1888 Nr. 33 p. 497).

Renaut,* „La nouvelle méthode de coloration des bacilles tuberculeux de Mrs. Pillion et G. Roux“ (Gaz. méd. 1888 Nr. 21, ref. Baumgarten's Jahresber. 1888 p. 167).

Rindfleisch, Klin. Demonstration am 10. Dez. 1882 in Würzburg. (Bericht über die aus Prof. Rindfleisch's Kursen stammende Methode zur Färbung der Tuberkelbacillen, ref. D. Med. Wschr. 1883 p. 16, Allgem. Med. Centralz. 1882 p. 1286, Berl. Klin. Wschr. 1883 Nr. 24 p. 365.)

—* Sitzungsber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1882 Nr. 8, ref. von Weichselbaum (Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 695).

Rütimeyer,** (Correspondenzbl. f. Schweiz. Ärzte 1883 Aug.).

—* (Cbl. f. kl. Medic. 1885 Nr. 21, ref. D. Med. Wschr. 1885 Nr. 31 p. 630).

Runkwitz (s. C. Fräntzel und Runkwitz).

Samter, J., „Mischinfektion von Tuberkelbacillen und Pneumoniemikrococcen“ (Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 25 p. 388).

— „Ein Nachwort zu meinem Aufsatz ‚Mischinfektion von Tuberkelbacillen und Pneumoniemikrococcen‘ in Nr. 25 d. Wschr.“ (Berl. Kl. Wschr. 1884 Nr. 27 p. 431).

Schill, „Über den Nachweis von Tuberkelbacillen im Sputum“ (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 2 p. 15).

— „Kleine Beiträge zur bakteriologischen Technik ‚Tuberkelbacillenfärbung auf dem Objektträger‘“ (Cbl. f. Bakt. 1889 Bd. V p. 340).

Schottelius, M., „Beobachtung kernartiger Körper im Innern von Spaltpilzen“ (Cbl. f. Bakt. 1888 Nr. 23 p. 705).

v. Schroen, „Über Tuberkelbacillen und die Tuberkelspore“ (Tagebl. d. 59. Versamml. dtsch. Naturf. u. Ärzte, Berlin 1886).

Schultz, G., „Die Chemie des Steinkohlenteers“. II. Aufl. Braunschweig. Vieweg & Sohn 1886.

Schultz, G. und **P. Julius**, „Tabellarische Übersicht der künstlichen organischen Farbstoffe“. Berlin 1888.

Sée, G., (Bulletin de l'Acad. de méd. 1883 Déc.).

— „De la phthisie bacillaire des poumons“. Paris 1884. 8⁰.

— „Die bacilläre Lungenphthise“. Autor. dtsch. Ausg. Berlin 1886.

v. Sehlen, „Kleine Beiträge zur Bakteriologischen Methodik“ (Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. IV p. 685 und 722).

Senkewitsch,* (Revue für Tierheilkunde 1884 Bd. VII Nr. 7, ref. Plaut, Methoden 1885 p. 21).

Sigel (s. Biedert und Sigel).

Simon (s. Coze et Simon).

de Souza,* „Procédé rapide de coloration à froid des bacilles tuberculeux dans les crachats“ (El siglo medico. Compt. rend. de la société de Biologie 1887 Nr. 25, ref. D. Mdztg. 1889 Nr. 61 p. 705 und Baumgarten's Jahresber. 1888).

Spina,* „Studien über Tuberkulose“. Wien.

—* „Über die angeblichen Tuberkelbacillen und ihr Verhältnis zur Tuberkulose“ (Wien. med. Presse 1883 Nr. 19 und 20).

—** „Časopis lekačn českych 1885 Nr. 4.“

Ssacharow,** „Apparat zur schleunigen Fertigstellung der Farblösung, um Tuberkelbacillen zu färben“ (Russkaja Medicina 1886 Nr. 11. Russisch, cit. nach Lubimoff Cbl. f. Bakt. 1888 III p. 541).

Stroschein, E., „Beiträge zur Untersuchung tuberkulösen Sputums" (Mitt. a. Dr. Brehmer's Heilanstalt Wiesbaden 1889 p. 285).
Talamon, „Le bacille de Koch. au point de vue clinique" (Extrait des Archives générales de Médecine Numéro de févr. 1884. Paris 1884).
Tolman.** (The medic. Record 1886, ref. Weichselbaum Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 721).
Troup, Fr.,* „Sputum: its microscopy and diagnostic and prognostic significations" 8⁰ 263 p. Edinb. (Oliver and Bayd Tweedale Court 1887, ref. Becker Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 707).
— „The diagnosis of early phthisis by the microscope" 8⁰. 8 p. Edinburgh 1888 (ref. Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. IV p. 627).
Unna, P. G.,* „Zur Färbung der Leprabacillen" (Monatshefte für prakt. Dermatol. Ergänzungsheft 1885 p. 47. ref. Baumgarten's Jahresber. 1885 p. 90).
— „Die Leprabacillen in ihrem Verhältnis zum Hautgewebe" (Dermatol. Studien Hft. 1. Hamburg und Leipzig. Leopold Vofs. 1886).
— „Die Rosaniline und Pararosaniline. Eine bakteriologische Farbenstudie." (Dermatol. Studien Hft. IV. 8⁰. 73 p. Hamburg u. Leipzig, Leopold Vofs. 1887. ref. Cbl. f. Bakt. 1887 Bd. II p. 135).
Veraguth, „Über den Nachweis der Tuberkelbacillen in Chromsäurepräparaten" (Berl. Kl. Wschr. 1883 Nr. 13 p. 190).
Voltolini,* „Über ein besonderes Erkennungszeichen der Tuberkelbacillen" (Bresl. ärztl. Ztschr. 1875 Nr. 15, ref. Cbl. f. med. Wiss. 1885 Nr. 51 p. 920).
Weichselbaum, „Über Tuberkelbacillen im Blute bei allgemeiner acuter Tuberkulose" (Wien. med. Wschr. 1884 Nr. 12 p. 334, Nr. 13 p. 365 u. ref. Fortschr. d. Med. 1884 Nr. 9 p. 328).
— „Zusammenfassender Bericht über die Ätiologie der Tuberkulose" (Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. III p. 496. 528, 558, 592, 622, 655, 694, 720, 750).
Weigert, C.,* „Färbung von Bakterien" (Bericht über die Sitz. der Schles. Gesellsch. f. vaterl. Kultur. v. 10. Dez. 1875).
— „Zur Technik der mikrosk. Bakterienuntersuchung" (Virch. Arch. Bd. 84 1881 p. 275).
— „Neue Mitteilungen über die Pathogenie der akuten allgemeinen Miliartuberkulose" (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 24).
— „Erwiderung auf die „Bemerkung" des Herrn Prof. Baumgarten (in Nr. 26 dieser Ztschr., D. Med. Wschr. 1883 Nr. 29 p. 433).
— „Zusatz zu dem Obigen" (Artikel von Prof. Baumgarten). D. Med. Wschr. 1883 Nr. 31 p. 459.
— (Fortschr. d. Medizin 1887 Nr. 8).
— „Über Metschnikoff's Theorie der tuberkulösen Riesenzellen" (Fortschr. d. Medic. 1888 Nr. 21).
Wendriner, M., „Zur mikrosk. Untersuchung des Harns auf organische Sedimentbestandteile" (Allgem. Med. Centralztg. 1889 Nr. 8 p. 161—162).
Wesener, „Über das tinktorielle Verhalten der Lepra- und der Tuberkelbacillen" (Cbl. f. Bakt. 1887 Bd. I p. 450).
— „Zur Färbung der Lepra- und der Tuberkelbacillen" (Cbl. f. Bakt. 1887 Bd. II p. 291).
Weyl, Th., „Zur Chemie und Toxicologie des Tuberkelbacillus" (D. Med. Wschr. 1891 Nr. 7 p. 257).
Williams, Ch. Th.,** (The Lancet 1883 Febr., Juli u. Aug.).
—* „Pulmonary consumption, its etiology, pathology and treatment" 2. Aufl. 8⁰. 446 p. London 1887 (ref. Cbl. f. Bakt. 1888 Bd. IV p. 628).

Winternitz, „Verschwinden und Wiederauftreten der Tuberkelbacillen im Sputum" (Wien. med. Presse 1890 Nr. 4).
Wolfram,** (Prceglad lek. 1884).
Wyssokowicz, „Über die Beziehungen der Skrophulose zur Tuberkulose" (Mitt. a. Dr. Brehmer's Heilanstalt N. F. 1890 p. 28).
Ziehl, Fr., „Zur Färbung des Tuberkelbacillus" (D. Med. Wschr. 1882 Nr. 33 p. 451).
— „Zur Lehre von den Tuberkelbacillen, insbesondere über deren Bedeutung für Diagnose und Prognose" (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 5 p. 62).
— „Über die Färbung des Tuberkelbacillus" (D. Med. Wschr. 1883 Nr. 14 p. 247).

Bezugsquellen

für Mikroskope:

Hartnack — Potsdam.
Leitz — Wetzlar.
W. & H. Seiberth — Wetzlar.
Winkel — Göttingen.
C. Zeiſs — Jena.

für Instrumente etc.:

F. & M. Lautenschläger — Berlin, Ziegelstr. 24.

für Farbstoffe:

Dr. Georg Grübler — Leipzig, Bayerstr. 12.
Georg König — Berlin NW., Dorotheenstr. 29.

Sonst:

Bad. Anilin- und Sodafabrik zu Mannheim.
Chem. Fabrik vorm. Bayer & Co. — Elberfeld-Barmen.
Höchster Fabrik Meister, Lucius & Brüning.

Erklärung der Tafel.

Fig. 1. Normale typische Tuberkelbacillen.

„ 2. Kurze und gekrümmte Tuberkelbacillen (wie sie häufiger in jungen Kulturen getroffen werden) aus einem Kavernenbröckel.

„ 3. Kürzere und längere Verbände von gekrümmten Tuberkelbacillen, teilweise spirochätenartige Anordnung.

„ 4. Tuberkelbacillen mit farblosen Lücken im Innern, welche jedoch keinesfalls als Sporen aufzufassen sind. Die einzelnen Glieder der Tuberkelbacillenkette erscheinen vielmehr wie in einem mehr oder weniger farblosen, oft glashellen Schlauch steckend und durch gleichsam ausgefallenen Gliedern entsprechende Lücken von einander getrennt. ca. 1000 f.

„ 5. „Sporenhaltige“ Tuberkelbacillen. Nach Koch'scher Darstellung vacuolärer Typus. ca. 1000 f.

„ 6. „Sporenhaltige“ Tuberkelbacillen. Darstellung nach Flügge (die „Sporen“ überragen seitlich den Kontur des Bacillus), ampullärer Typus. ca. 1000 f.

„ 7. „Sporenhaltige“ (?) Tuberkelbacillen aus homogenisiertem Sputum. Die Bacillen sind dünn, schlecht gefärbt.

„ 8. Tuberkelbacillen, rot mit dunkler rot gefärbten knotigen Anschwellungen (Sporen?).

„ 9. Dieselben stärker ausgebildet, cf. Kleb's Abbildung sporenhaltiger Tuberkelbacillen.

„ 10. Kernartige (?) „sporogene Körner“ in den Tuberkelbacillen nach Ernst (warme Löffler'sche Lösung, Nachfärbung mit Saffranin), alte Tuberkelreinkultur.

„ 11. Kernartige (?) „sporogene Körner“ in den Tuberkelbacillen, gefärbt nach Ernst mit Delafield's Hämatoxylin. Alte Tuberkelreinkultur.

„ 12. Schwarze eigentümliche runde bis eiförmige Körper in den Bacillen einer alten Tuberkelbacillenreinkultur. Eigene Methode. ca. 1000 f.

„ 13. Dieselben im Sputumpräparat. Hartn. Ölimm. $^1/_{12}$ Okul. 3.

„ 14. Dieselben Körper dunkelrot in lichtblauen Tuberkelbacillen aus alter Glycerinagarreinkultur. Modific. Neifser'sche Sporenfärbemethode. ca. 1000 f.

„ 15. Dieselben Körper in den Bacillen einer alten Glycerinagarreinkultur. Färbung nach Gram. Coccothrixbilder (?). Hartn. Ölimm. $^1/_{12}$ Okul. 3.

Fig. 16. Sogenannte Involutionsformen mit kolbigen Anschwellungen. Färbung mit Karbolfuchsin. Entfärbung in Salpetersäure. 1000 f.

„ 17. Gliederung resp. Zerfall der Tuberkelbacillen in mehr oder weniger kurze Stücke. Die Bacillen sind wie von einem lichten Hofe umgeben.

„ 18. Zerfall der schlecht gefärbten, sehr dünnen Tuberkelbacillen in perlschnurartig hintereinander angeordnete Körnchen; fälschlich als Zerfall in Coccen bezeichnet.

„ 19. Regellos zerstreute Lagerung typischer Tuberkelbacillen. Die Zellen des Sputums sind zerfallen und auch die Kerne nur noch verwaschen gefärbt.

„ 20. Typische Gruppierungen der Tuberkelbacillen zu zweien hintereinander oder in winkliger Knickung, parallel oder zu vieren paarweis parallel oder in kleinen Häufchen.

„ 21. Tuberkelbacillen in Leukocyten.

„ 22. Tuberkelbacillen in grofsen epithelialen Zellen.

„ 23. Tuberkelbacillenhäufchen aus einer zerfallenden Zelle frei werdend. Man sieht als Rest der Zelle nur noch einen schmalen blaugefärbten Saum.

„ 24. Kümmerlich entwickelte schlecht gefärbte Tuberkelbacillen in leicht rosa tingierten glasigen Schollen (hyalinen Umwandlungsprodukten von Zellen?).

„ 25. Schlangenförmige Anhäufungen von Tuberkelbacillen (wie in den Kolonien der Reinkulturen) aus der Wand einer experimentell erzeugten Kaverne vom Meerschweinchen.

„ 26. Ähnliche Anordnung der Tuberkelbacillen aus (Kavernen-?)Sputum.

„ 27. Pflasterepithelzellen umlagert von Mikrococcenzoogloeen, Leptothrixfäden, Kapseldiplococcen. Die oberste Zelle links zeigt noch deutlichen Kern. Bei der oberen Zelle rechts ist der Kern undeutlicher. Die beiden unteren (schon verhornten?) Zellen haben einen rosa Ton behalten, zeigen jedoch noch einen abgeblafsten verschwommenen Kern.

„ 28. Kurze Bakterien, teilweise in kettenförmiger Anordnung (Torula).

„ 29. Kettencoccen mit paarweiser Gliederung aus der Mundhöhle.

„ 30. Micrococcus tetragenus.

„ 31. Sputum mit Tuberkelbacillen und braungelben kapselartigen eiförmigen Gebilden (Psorospermien?). Daneben einige fremde Bacillen und ein Diplococcus mit Kapsel.